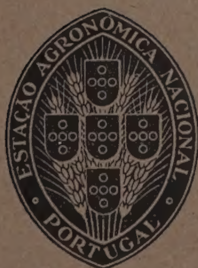
AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 6 — N.º 2
1944



ESTAÇÃO AGRONÓMICA NACIONAL
QUINTA DA ALDEIA - SACAVÉM
PORTUGAL

AGRONOMIA LUSITANA

VOL. 6 — N.º 2
1944



Estação Agronómica Nacional
PORTUGAL

Composição e impressão das Oficinas
da Tip. Alcobacense Lt. — Alcobaça

SÔBRE A CARIOLOGIA DA SECÇÃO *COARCTATAE* BERGER DO GÉNERO *HAWORTHIA* DUVAL

POR *J. PINTO LOPES*
(do Instituto Botânico de Lisboa)

I — INTRODUÇÃO

O género *Haworthia* Duval pertence à sub-família das *Aloinae* da família das *Liliaceae*. A sua sistemática deve-se principalmente a DUVAL, a HAWORTH, e a BERGER e tem mais modernamente sido estudada por VON POELLNITZ, hoje o maior sistematista do género.

BERGER estabeleceu (1908) uma subdivisão do género em secções que, com a introdução de novas secções feita por VON POELLNITZ (1936), ainda hoje é seguida. São comuns a tôdas estas secções as seguintes características: as flôres são bilabiadas, brancas ou esbranquiçadas, erectas, e apresentam os segmentos recurvados para fóra, os estames inclusos e o ovário arredondado no cimo. Umas espécies apresentam indivíduos com o cormo alongado, outras com o cormo curto; nas primeiras, as fôlhas dispõem-se em 3, ou 5 ou mais séries verticais, direitas ou torcidas, ou espiraladas; nas segundas, as fôlhas dispõem-se em roseta e formam então fenotipos completamente diferentes. As fôlhas são côncavas, convexas ou planas na página superior e lisas ou tuberculadas numa ou em ambas as páginas; são quási só êstes caracteres que se utilizam na distinção das secções e das espécies.

Uma das secções do género *Haworthia*, a Secção *Coarctatae* Berger, da qual nos vamos ocupar, é constituida por espécies que apresentam os seguintes caracteres:

> «Folia spiraliter multifaria, dense imbricata apice leviter incurvula, caules cylindraceos elongatos efformantia, dorso lineis tenuibus elevatis, plerumque regulariter tuberculatis ornata. Pedunculus gracilis, subnudus; flores breviter pedicellati; limbi segmenta valde bilabiatim recurvata, superiora rectiora.» (BERGER 1908).

RESENDE elaborou em 1943 uma revisão sistemática de tôdas as formas conhecidas até hoje na Secção *Coarctatae* e considerou vinte espécies, quinze variedades e quatro formas.

* * *

Foi a família das *Liliaceae* a primeira onde se fez a contagem dos cromosomas de algumas espécies. As investigações realizadas no decurso dos 50 anos subseqüentes levaram a acreditar que «a maior parte dos géneros da família das Liliáceas são caracterizadas por tôdas as espécies possuírem o mesmo número de cromosomas. A ocorrência de géneros com números irregulares é rara e mais rara ainda a existência daqueles em que os números são múltiplos de um número fundamental, isto é, formam uma série poliplóide (só *Muscari* parece mostrar êsse comportamento).» (FERNANDES, 1931).

Nas *Aloinae*, poucas eram as formas poliplóides conhecidas: FERGUSON, em 1926, refere apenas a existência de cinco casos de poliplòidia. Até 1940, não se conhecia ainda nenhuma série poliplóide dentro da mesma espécie. Nesta data, RESENDE, ao apresentar uma compilação sôbre o que então se sabia àcêrca das *Aloinae*, mostra que, nesta sub-família das *Liliaceae*, todos os géneros estudados apresentam maior ou menor número de espécies poliplóides, cabendo a maior percentagem ao género *Haworthia*. Estavam estudadas cariològicamente 59 espécies dêste género, sete das quais pertencendo à secção *Coarctatae* e tôdas estas eram poliplóides.

No mesmo trabalho é noticiada a existência de uma série poliplóide natural, dentro da espécie *Haworthia tesselata*, onde se não encontram os graus impares de poliplòidia (3 x, 5 x, 7 x) e relata-se pela primeira vez a existência de formas octoplóides nas *Aloinae*. Uma forma triplóide e uma pentaplóide, já tinham sido encontradas pelo mesmo autor em 1938 respectivamente para *Haworthia Resendeana* ($2n = 21$) e *Aloe ciliaris* for. *gigas* ($2n = 35$).

Na secção *Coarctatae*, o que se sabe hoje do ponto de vista cariológico, resume-se na TABELA I extraída da tabela geral que RESENDE publicou em 1940:

TABELA I

Nomes das espécies e variedades	2n =
Haw. Chalwinii Marl. et Berg.	28
Haw. coarctata Haw.	42
Haw.Sampaiana Res.	39-40
Haw. glauca Haw.	29
Haw. Herrei v. P.	42?
Haw. Reinwardtii Haw.	28
» » ?	42
Haw. Reinwardtii var. *Archibaldiae* v. P.	28
Haw. Reinwardtii var. *conspicua* v. P.	28
Haw. Reinwardtii var. *pulchra* v. P.	28
Haw. Reinwardtii var *major* Bak.	28
Haw. Resendeana v. P.	21

RESENDE em 1936 e 1937, e SATÔ em 1937, determinaram os números cromosómicos das espécies *Haworthia Reinwardtii*, *Haw. coarctata*, *Haw. Chalwinii* e *Haw. Resendeana*. Em 1938, apresentou o primeiro autor o número de cromosomas para as restantes espécies e variedades apontadas nesta tabela; conheciam-se então 20 espécies e variedades pertencentes a esta secção.

Depois dêste trabalho não conhecemos mais nenhuma investigação cariológica desta Secção.

* * *

A cariologia parece confirmar a subdivisão das *Aloinaeae* em dois subgrupos (*Kniphofiinae* e *Aloinae)*, exclusivamente baseada em caracteres morfológicos, ao mostrar que as suas espécies diferem no aspecto geral dos cariotipos (FERNANDES, 1931). Porém, dentro das *Aloinae*, sendo poucas as espécies conhecidas com cariotipos diferentes, não se pôde atribuir grande valor taxonómico a êste

carácter. No entanto, dentro do género *Haworthia*, parecia encontrar-se uma secção bem caracterizada cariològicamente: tôdas as espécies aqui estudadas apresentavam-se poliplóides. Esta secção mostrou-se por isso a RESENDE (1938) como um agrupamento diferenciado dentro das outras secções por um processo relacionado com a poliplòidia.

Como esta secção estava pouco estudada e possuíamos exemplares de quási tôdas as formas descritas, propuzemo-nos fazer o seu estudo completo no sentido de elucidar melhor a questão que esta Secção suscitava, contribuindo assim para a resolução dos vastissimos problemas pendentes que ainda hoje esperam ser resolvidos no campo da poliplòidia natural. Esta comunicação relata o trabalho até agora realizado e é a primeira de uma série de comunicações em que exporemos as investigações que formos efectuando.

II — MATERIAL E MÉTODOS

Êste estudo foi realizado sôbre exemplares pertencentes à colecção do Prof. F. RESENDE, a qual compreende, nesta secção, as seguintes espécies, variedades e formas:

1. —	*Haw. Sampaiana* Res. (1)	
2. —	*Haw. Broteriana* Res.	
3. —	*Haw. Carrissoi* Res.	
4. —	*Haw. Rewendettii* Uit.	
6. —	*Haw. Kewensis* v. P.	
7 a. —	*Haw. Reinwardtii* Haw.	var. *conspicua* v. P.
b. —	» »	var. *Archibaldiae* v. P.
c. —	» »	var. *adelaidensis* v. P.
d. —	» »	var. *Chalwinii* (Marl. et Berg.) Res.
e. —	» »	var. *Triebnerii* Res.
f. —	» »	var. *minor* Bak.
g. —	» »	var. *fallax* v. P.
h. —	» »	var. *Haworthii* Res.
i. —	» »	var. *major* Bak.

(1) As espécies estão aqui dispostas pela ordem sistemática das chaves de RESENDE (1943, pag. 69).

10a. — *Haw. coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. major Res.
10b. — » » » » for. pseudocoarctata (v. P.) Res.
10c. — » » var. *Krausii* Res.
11a. — » *Greenii* Bak. for. *Bakerii* Res.
11b. — » » for. *minor* Res.
12. — » *Jacobseniana* v. P.
13. — » *Jonesiae* v. P.
15a. — » *Herrei* v. P. var. *Poellnitzii* Res.
15b. — » » var. *depauperata* v. P.
16. — » *rubrobrunea* v. P.
17. — » *Resendeana* v. P.
18a. — » *Eilyae* v. P. var. *Poellnitziana* Res.
18b. — » » var. *Zantnereana* Res.
19. — » *Armstrongii* v. P.
20. — » *glauca* Bak.
21. — » *Lisbonensis* Res.

Estudámos, portanto, com poucas excepções, tôdas as espécies, variedades e formas, até hoje descritas, da Secção *Coarctatae;* faltaram-nos representantes das seguintes espécies: *Haw. Skinnerii* (Berger) Res. (o único exemplar da colecção morreu na estufa do Jardim Botânico de Lisboa), *Haw. Cassytha Bak.* (« é possível que hoje não se encontre na Europa quaisquer plantas desta espécie »), *Haw. Peacockii* Bak. (v. POELLNITZ considera-a problemática) e *Haw. Henriquesii* Res. (o único exemplar da colecção morreu na estufa do Jardim Botânico de Coimbra).

O nosso estudo incidiu também sôbre os seguintes híbridos obtidos artificialmente:

Haw. Herrei × *Haw. Reinwardtii*
Haw. Jacobseniana × *Haw. Reinwardtii* var. *minor*
Haw. Henriquesii × *Haw. Eilyae*

As observações fôram feitas em exemplares envazados mantidos na estufa e ao ar livre do Jardim Botânico de Lisboa.

Para a contagem dos cromosomas utilizámos preparações de mitoses em vértices vegetativos de raízes, em grãos de polen e, raras vezes, em embriões.

Para a fixação dos vértices vegetativos de raízes usámos a maior parte das vezes o líquido de Carnoy e, quando o material se

destinava a inclusão, o de Flemming. As mitoses em embriões eram observadas depois dos embriões terem sido retirados das sementes, para o que estas eram mergulhadas em Carnoy e dilaceradas com duas agulhas, auxiliando-nos na visão uma lupa binocular.

As preparações de meristemas radiculares e de anteras eram executadas recorrendo ao processo de esfregaços. Utilizámos raras vezes o método de inclusão em parafina e isto só para raízes; nêste caso, os cortes eram feitos com a expessura de 20 μ.

A coloração que empregámos para os vértices vegetativos foi sempre a de Feulgen; para os esfregaços de anteras, seguimos a técnica do carmin acético.

Para a observação da germinação dos grãos de pólen, usámos quási sempre o meio de cultura artificial que nos deu resultados mais satisfatórios e cuja composição é a seguinte:

gelatina	7 gr.
sacarose	5 »
agar-agar	2 »
água	100 c c

Para a cultura dos grãos de pólen procediamos da seguinte maneira: sôbre uma lâmina limpa colocávamos uma gota dêste meio de cultura agarisado liquefeito, que deixávamos solidificar; entretanto retirávamos, com uma agulha esterilizada, grãos de pólen de anteras deiscentes e «semeávamos» sôbre a gota de cultura já então solidificada. A lâmina com a «sementeira» era depois colocada numa câmara úmida constituida por uma caixa de Petri cujo fundo era recoberto por algodão molhado em água, sôbre o qual assentava a lâmina.

Quando os grãos tinham germinado e queriamos pôr em evidência os núcleos nos diferentes tempos de germinação, utilizávamos a técnica do carmim acético. A técnica de HEITZ e RESENDE (1936) para a observação dos tubos polínicos não tem sido seguida por outros autores pelo facto de não permitir a realização de preparações definitivas (RESENDE, comunicação verbal). Nós conseguimos obviar a êste inconveniente da técnica, procedendo do seguinte modo para a obtenção das preparações: Transportávamos, com uma agulha, os grãos de polén, nas ocasiões requeri-

das, para uma gota de carmim acético colocada sôbre uma outra lâmina, cobriamos com a lamela e aqueciamos moderadamente; se os núcleos ou os cromosomas não ficavam bem corados, adicionávamos nova gota de carmim acético e repetiamos o aquècimento. Estas preparações eram tornadas permanentes seguindo a modificação que MC. CLINTOCK (1929) introduziu na execução de preparações obtidas pelo método de esfregaço.

Fôram as seguintes as espécies de que fizemos a cultura artificial dos grãos de polén:

diplóides (2n=14):
- *Haw. Carrissoi* Res.
- *Haw Kewensis* v. P.
- *Haw Reinwardtii* Haw.
  var. *minor* Bak.
- *Haw. Lisbonensis* Res.
- *Haw. Herrei* × *Haw.* Reinwardtii

tetraplóides (2n=28):
- *Haw. Reinwardtii* Haw.
  var. *Haworthii* Res.
- *Haw. coarctata* Haw.
  var. *Haworthii* Res.
  for. *pseudocoarctata* (v. P.) Res.
- *Haw. glauca* Bak.

pentaplóide (2n=35):
- *Haw. Broteriana* Res.

hexaplóides (2n=42):
- *Haw. coarctata* Haw.
  var. *Haworthii* Res.
  for. *major* Res.
- *Haw. Armstrongii* v. P.

Para a obtenção dos desenhos utilizámos um aparelho de Abbe e desenhámos sempre no plano da mêsa do microscópio.

Quási tôdas as figuras de mitoses radiculares incluidas no texto fôram obtidas de preparações montadas em bálsamo de Canadá; a princípio procedemos da mesma forma para as tétradas, mas em

breve preferimos utilizar apenas preparações temporárias em carmin acético porque pudemos constatar que, nas mesmas espécies, as células-mãis dos grãos de polen se apresentavam com dimensões muito diferentes conforme eram observadas em preparações definitivas ou em preparações a frêsco — as células montadas em bálsamo de Canadá mostravam-se muito contraídas.

Não estudámos, nêste primeiro trabalho, a meiose, que, principalmente nas espécies poliplóides, tem particular interêsse.

III — SÔBRE A GUARNIÇÃO CROMOSÓMICA DAS DIFERENTES FORMAS

A guarnição haplóide das *Aloinae* apresenta-se em tôda a sub-família com uma extraordinária constância; o número haplóide compreende sete cromosomas, quatro grandes e três pequenos, não se conhecendo até hoje nenhuma forma de qualquer dos cinco géneros estudados onde a guarnição cromosómica seja diferente dêste esquema (comp. FERGUSON, 1926; FERNANDES, 1931; SHARP, 1934; RESENDE, 1937; SATÔ, 1936, 1937, etc.).

Estudámos aqui a guarnição cromosómica das seguintes formas:

Haworthia Sampaiana Res.

Esta espécie tinha sido anteriormente estudada por RESENDE (1938) que, atribuindo-lhe um número cromosómico igual a 39 ou 40, a cita como o primeiro caso, conhecido entre as Aloineas, de uma espécie aneuplóide na natureza.

As nossas observações não confirmam aquêle número, pois pudemos contar, em ambos os polos da anafase que a fig. 1 representa, 36 cromosomas, dos quais 21 grandes e 15 pequenos, todos suficientemente separados para que pudessem ser desenhados sem deixar lugar a dúvidas. Trata-se portanto de um caso de hiperpentaplòidia. Em metafases e outras anafases verificámos igualmente a existência de 21 cromosomas grandes; quanto aos pequenos, ainda não observámos outra mitose onde êles fôssem vistos tão bem como na anafase representada na Fig. 1.

Se bem que na contagem dos cromosomas grandes não se depare com muita dificuldade, é extremamente difícil conseguir mitoses onde a contagem dos pequenos se possa fazer de maneira a não deixar dúvidas, e isto tanto nesta espécie como em qualquer outra forma das *Aloinae* (comp. RESENDE, 1937; STRAUB, 1939); a isto se deve o facto de, por vezes, não apresentarmos o número dêstes cromosomas nas espécies que se seguem, por não termos ainda, em alguns casos, conseguido mitoses com suficiente clareza para isso.

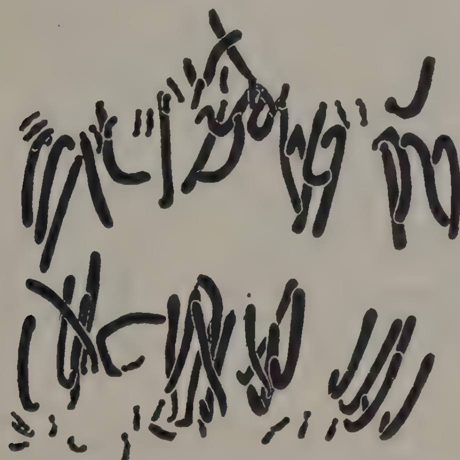


Fig. 1. — *Haworthia Sampaiana* Res.
Anafase numa célula do meristema radicular. Carnoy. Feulgen.
aprox.te × 1700

2. *Haworthia Broteriana* Res.

Esta espécie nunca tinha sido estudada do ponto de vista cariológico.

A contagem dos cromosomas, feita tanto em metafases (Fig. 2 a) como em anafases (Fig. 2 b), em células de vértices vegetativos de raizes, atinge o número de 35. A espécie é portanto pentaplóide.

Quanto ao tamanho relativo dos cromosomas, ao contrário do que acontece em tôdas as outras espécies estudadas do género *Haworthia*, há três tipos de cromosomas: entre os grandes e os pequenos, há uns intermediários. As diferenças no comprimento estabelecem-se bem em qualquer das figuras apresenta-

das, mas na anafase (Fig. 2b), em que alguns cromosomas se sobrepõem, tornam-se mais evidentes: são 13 grandes, 7 médios e 15 pequenos. Trata-se, pois, dum caso de cuja alopoliplòidia se não pode duvidar.

É interessante notar que, numa variedade de *Haworthia cymbiformis*, TAYLOR (1925) consegue distinguir quatro tipos de cromosomas e que no género *Aloe* é conhecida uma forma diplóide, *Aloe mitriformis* var. *typica*, onde se encontram também cromosomas de tamanho intermediário (v. RESENDE, 1937).

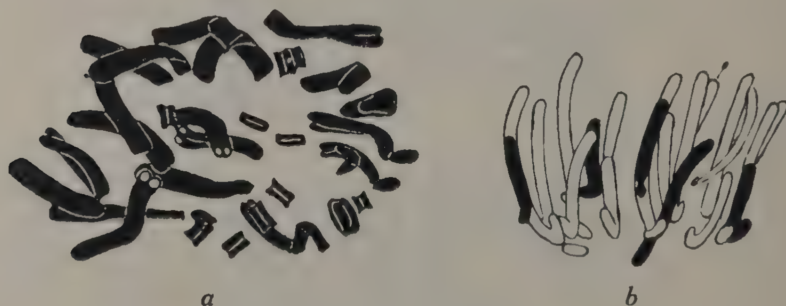


Fig. 2 — *Haworthia Broteriana* Res.
a, Metafase, e *b*, Anafase (só um dos grupos polares) em células do meristema radicular. Carnoy. Feulgen.
aprox.te × 1700

4. *Haworthia Rewendetii* Uitew.

É esta outra espécie que verificámos ser pentaplóide, pois contámos 20 cromosomas grandes e 15 pequenos em mitoses de células de meristemas radiculares (Fig. 3). Por esta razão a enunciamos aqui, a seguir à *Haworthia Broteriana* Res., também pentaplóide, para darmos já o nosso parecer àcêrca da possível origem destas formas. Elas são, na verdade, morfològicamente semelhantes, e isto pode ser mais uma prova a favor da sua origem comum. É presumível que ambas estas espécies sejam híbridos originados por cruzamento de formas hexaplóides com outras tetraplóides. Quanto à hiperpentaplòidia apresentada pela

Haw. Sampaiana Res., pode ter-se originado a partir duma forma pentaplóide por um mecanismo a que adiante nos referiremos.

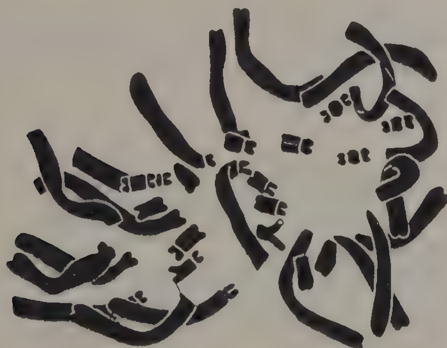


Fig. 3. — *Haworthia Revendetii* Uit.
Metafase numa célula do meristema radicular. Carnoy. Feulgen.
aprox.te × 1700

3. *Haworthia Carrissoi* Res.

Nesta espécie, aqui pela primeira vez estudada, os cromosomas, contados em grãos de pólen (Fig. 4), são em número de 14 — 8 grandes e 6 pequenos (número gamofásico), donde se verifica que a espécie é tetraplóide.

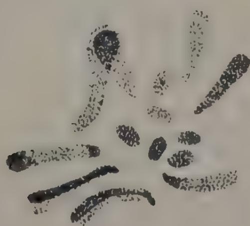


Fig. 4. — *Haworthia Carrissoi* Res.
Grão de pólen em metafase da primeira divisão. Carmim acético.
aprox.te × 1700

6. *Haworthia Kewensis* v. P.

Mitoses de meristemas radiculares mostraram-nos que a espécie tem 14 cromosomas somáticos; o número também foi determinado na gamofase, confirmando o número zigótico. Esta espécie é portanto diplóide.

7. *Haworthia Reinwardtii* Res.

É uma espécie muito polimorfa, compreendendo nove variedades conhecidas, as quais apresentam, segundo as observações que realizámos, os seguintes números de cromosomas:

a. Haworthia Reinwardtii var. *conspicua* v. P.

Confirmamos a tetraplòidia determinada por RESENDE (1938) para esta variedade, pois observámos 28 cromosomas, 16 grandes e 12 pequenos, em mitoses de meristemas radiculares (Fig. 5).

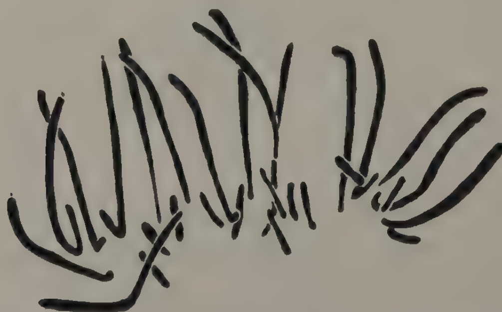


Fig. 5 — *Haworthia Reinwardtii* Haw. var. *conspicua* v. P.
Um dos pólos duma anafase numa célula do meristema radicular.
Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

Além destas, são também tetraplóides as variedades: *d*) Chalwinii, *g*) fallax, e *h*) Hawortii:

d. Haworthia Reinwardtii Haw. var. *Chalwinii* (Marl. et Berg.) Res.

Esta variedade já tinha sido estudada por RESENDE (1937); segundo êste autor, a variedade é tetraplóide, o que está de acôrdo com as nossas observações (Fig. 6).

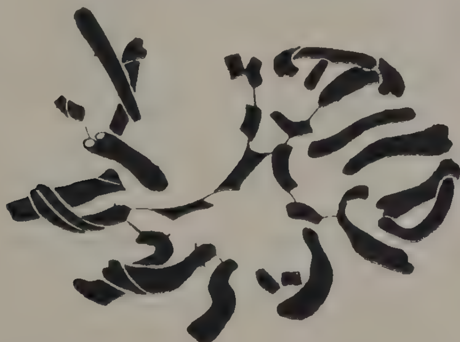


Fig. 6. — *Haworthia Reinwardtii* Haw. var. *Chalwinii* (M. et B.) Res. Metafase numa célula de meristema radicular. Note-se a abundância de aglutinação; além disso, observam-se filamentos de kalymma que partem de alguns cromosomas e não formam aglutinação, devendo ser vestígios de antigas ligações com outros cromosomas. Repare-se também na distensão sofrida por alguns dos cromosomas pequenos. Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

Nas variedades *fallax* e *Haworthii* pudemos contar 16 cromosomas grandes em células somáticas, e êste número leva-nos já a

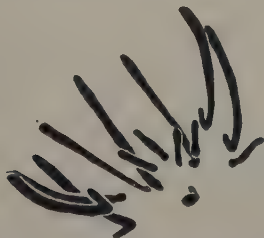


Fig. 7.—*Haworthia Reinwardtii Haw.* var. *fallax* v. P. Um dos pólos duma anafase numa célula do meristema radicular. Carnoy. Feulgen. aproxte. × 1700.

supôr que as duas variedades são tetraplóides, apesar de não termos ainda conseguido contar os cromosomas pequenos.

Num outro individuo da var. *fallax*, observámos, porém, que as células somáticas se apresentavam diplóides (Fig. 7).

b. Haworthia Reinwardtii Haw. var. *Archibaldiae* v. P.

RESENDE (1938) apresentou esta variedade como tetraplóide. Pela observação das nossas preparações, obtidas por meio de esfregaços de vértices vegetativos de raízes, afirmamos que é, antes, triplóide, pois verificámos a existência de 12 cromosomas grandes, não nos tendo ainda sido possível contar os pequenos. Observámos um outro indivíduo que parece pertencer a esta mesma variedade, mas que difere do anterior por ter as fôlhas erectas e apertadas enquanto que as daquele são patentes e porque só as fôlhas superiores apresentam tubérculos na página ventral, o que naquele se encontra em tôdas as fôlhas; a êstes caracteres porém não se pode atribuir, de momento, grande valor, pois nos devemos lembrar que o aspecto morfológico varia imenso com a idade (de facto, temos de tomar em consideração a «extraordinária labilidade fenotípica de que estas plantas são susceptíveis» — RESENDE, 1943). Nas células dos vértices vegetativos do indivíduo a que acabamos de nos referir observámos 12 cromosomas grandes e 9 cromosomas pequenos.

Nas variedades diplóides, a contagem dos cromosomas é, evidentemente, mais fácil. São diplóides as seguintes variedades: *c)*

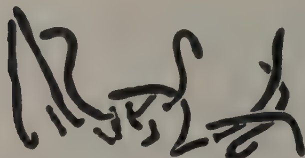


Fig. 8. — *Haworthia Reinwardtii* Haw. var. *adelaidensis* v. P. Um dos pólos de anafase numa célula do meristema radicular. Carnoy. Feulgen. aprox.[te] × 1700.



Fig. 9. — *Haworthia Reinwardtii* Haw. var. *Triebnerii* Res. Grão de pólen em metafase da primeira divisão. Carmim acético. aprox.[te] × 1700.

var. *adelaidensis* (Fig. 8), *e)* var. *Triebnerii* (Fig. 9), *f)* var. *minor* (Fig. 10) e *i)* var. *major* (Fig. 11).



Fig. 10. — *Haworthia Reinwardtii* Haw. var. *minor* Bak.
Grão de pólen em metafase da primeira divisão.
Carmim acético. aprox.te × 1700.

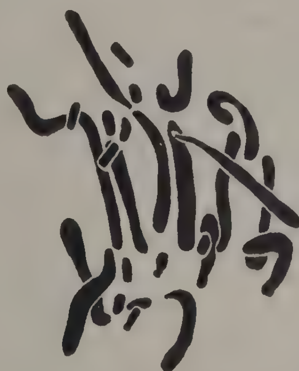


Fig. 11. — *Haworthia Reinwardtii* Haw. var. *major* Bak.
Anafase numa célula do meristema radicular.
Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

Destas variedades, apenas a *major* foi estudada por RESENDE, (1938) que, no entanto, a dá como tetraplóide.

Os resultados das nossas investigações, no que se refere ao número de cromosomas das variedades de *Haw. Reinwardtii* Haw., são apresentados na seguinte tabela:

TABELA II

Grau de poliplòidia	Variedades	2n =
diplóides	*Haw. Reinw.* var. *adelaidensis* v. P.	14
	» » var. *Triebnerii* Res.	14
	» » var. *minor* Bak.	14
	» » var. *major* Bak.	14
triplóide	: *Haw. Reinw.* var. *Archibaldiae* v. P.	21
tetraplóides	*Haw. Reinw.* var. *conspicua* v. P.	28
	» » var. *Chalwinii* (M. et B.) Res.	28
	» » var. *fallax* v. P.	28
	» » var. *Haworthii* Res.	28

Pelo confronto desta tabela com a que incluimos no capítulo «Introdução» (Tabela I) se conclui que as nossas investigações nesta espécie nos permitem confirmar o número cromosómico anteriormente atribuido a duas variedades (var. *conspicua* e var. *Chalwinii*) e emendar o número que foi atribuido a outras duas (var. *Archibaldiae* e var. *major*); as restantes não tinham ainda sido objecto de estudo por parte dos cariologistas.

Encontram-se, pois, dentro da espécie *Haworthia Reinwardtii* Haw. formas diplóides, triplóides e tetraplóides, isto é, uma série poliplóide natural cujo termo mais elevado é 4x.

Morfològicamente não mostram estas formas quaisquer caracteres que nos fizessem prèviamente suspeitar de que estavamos em presença duma série poliplóide. Dentro de cada grau de poliplòidia encontram-se, como em *Haworthia tessellata* Haw., formas tão diferentes entre si como das formas pertencentes a outro grau de poliplòidia.

As discordâncias entre os resultados de RESENDE e os nossos, no que se refere a esta espécie, devem procurar-se no facto de que aquêle autor realizou o seu estudo sôbre exemplares cuja determinação não era correcta (comunicação verbal). Hoje, a colecção que nós estudámos é, não só completa, como foi revista por VON POELLNITZ e RESENDE e compreende alguns especimes-tipos de espécies criadas por êstes dois autores.

Quanto à forma que SATÔ verificou ser hexaplóide, acreditamos tratar-se antes de *Haworthia coarctata;* acontece até que no Jardim Botânico de Lisboa todos os especimes de *Haworthia coarctata* for. *major* se encontravam classificados como *Haw. Reinwardtii;* é quási certo que SATÔ utilizou também exemplares de Haw. coarctata que considerou como pertencendo à espécie Haw. Reinwardtii.

10. ***Haworthia coarctata*** Haw.

São consideradas nesta espécie duas variedades: *Haworthii* Res. e *Krausii* Res., a primeira das quais com duas formas, for. *major* Res. e for. *pseudocoarctata* (v. P.) Res.

10 a. *Haworthia coarctata* Haw.
var. ***Haworthii*** Res.
for. ***major*** Res.

RESENDE, que estudou esta forma (1937), chegou à conclusão de que é hexaplóide, só pela contagem dos cromosomas grandes. Nós confirmamos esta suposição pelo estudo que fizemos de mitoses de grãos de pólen (Fig. 12), onde contámos 12 cromosomas grandes e 9 pequenos.

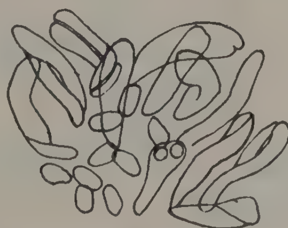


Fig. 12. — *Haworthia coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res.
for. *major* Res.
Metafase da primeira divisão em grão de pólen.
Carmim acético. aprox.te × 1700.

10 b. *Haworthia coarctata* Haw.
var. ***Haworthii*** Res.
for. ***pseudocoarctata*** (v. P.) Res.

Em mitoses de vértices vegetativos de raízes contámos 28 cromosomas, número indicado agora pela primeira vez; esta forma é, portanto, tetraplóide. É interessante de novo notar-se como duas formas da mesma variedade apresentam números de cromosomas tão diferentes e sejam uma hexaplóide e outra tetraplóide, sem que a quantidade dos seus caracteres morfológicos nos desse a mínima suspeita disso.

10 c. ***Haworthia coarctata*** Haw.
var. *Krausii* Res.

Da mesma maneira que a forma *major* da variedade *Haworthii*, também esta variedade é hexaplóide, como pudemos verificar

pela contagem de 24 cromosomas grandes em células de vértices vegetativos de raízes.

11 a. *Haworthia Greenii* Bak.
for. ***Bakerii*** Res.

Pela contagem dos cromosomas em mitoses de vértices vegetativos de raízes, reconhecemos que a forma é tetraplóide (Fig. 13).

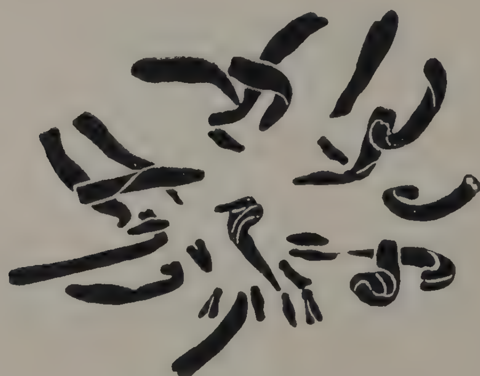


Fig. 13. — *Haworthia Greenii* Bak. for. *Bakerii* Res. Metafase numa célula meristemática radicular, onde se contam 16 cromosomas grandes e 12 pequenos Carnoy. Feulgen. aprox^te^. × 1700.

11 b. *Haworthia Greenii* Bak.
for. minor Res.

É, como a forma anterior, tetraplóide, pois as suas células somáticas contêm 24 cromosomas, segundo observámos em meta- (Fig. 14) e anafases (Fig. 15) de meristemas radiculares.

Nenhuma das formas fôra ainda estudada.

O aspecto morfológico de uma e de outra destas formas mostra que a diferença entre elas é fundamentalmente quantitativa (v. descrição de BERGER, 1907, e RESENDE, 1943) e justamente por isso o nome

de uma das variedades (minor). RESENDE pensou primeiro designar uma como var. major e outra como minor; para se submeter, porém, às regras de nomenclatura por êle propostas (1940) teve de designar a «major» por Bakerii (comunicação verbal).

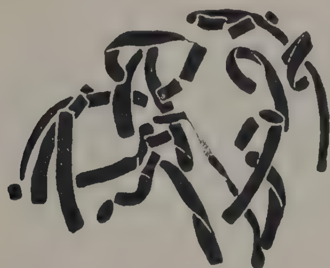


Fig. 14. — *Haworthia Greenii* Bak. for. *minor* Res. Metafase numa célula do meristema radicular. Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

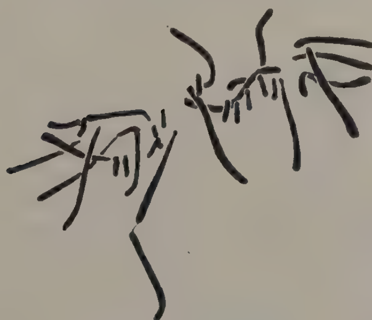


Fig. 15. — *Haworthia Greenii* Bak. for. *minor* Res. Um dos pólos de anafase numa célula meristemática radicular, onde se contam 16 cromosomas grandes e 12 pequenos. Desenhou-se também um cromosoma do outro pólo para mostrar uma pseudo-ponte. Carnoy. Feulgen. aproxte. × 1700.

A concluir dos aspectos morfológicos, era de esperar que a diferença morfológica entre as duas formas fôsse apenas o resultado do diferente número de cromosomas de uma e de outra, pois aquelas diferenças são apenas quantitativas. Tudo levava a supôr que a forma «major» fôsse um tetraplóide da forma *minor*. A nossa

surprêsa foi tão grande, ao observarmos identidade de número de cromosomas nas duas formas, que pensámos ainda na possibilidade da existência de uma diferença na massa cromática. Pensámos estar em presença de casos como os de TISCHLER (1919, segundo referência de RESENDE, 1938), em *Phragmites*. Porém, nem isso se observa. As anafases representadas nas Figs. 15, 27 e 28, e as metafases das Figs. 13 e 14 pareciam indicar que a for. *Bakerii* tem maior massa cromática do que a for. *minor*. Todavia, a observação de grande número de meta- e de anafases de ambas as formas não nos permitiu estabelecer diferenças, obrigando-nos a pôr de parte aquêle critério. Aquelas diferenças quantitativas devem ter origem apenas em mutações génicas, caso uma das formas tivesse dado origem a outra; é, no entanto, mais provável que elas derivem de duas formas diplóides diferentes entre si por alguns genes que, na duplicação do genoma, se manifestam de maneira a dar duas formas tetraplóides quantitativamente diferentes (comp. os interessantes resultados experimentais de PISCHLER—1942).

12. *Haworthia Jacobseniana* v. P.

Esta espécie é diplóide, pois as suas células somáticas têm 14 cromosomas, conforme vimos em mitoses de meristemas radiculares (Fig. 16).

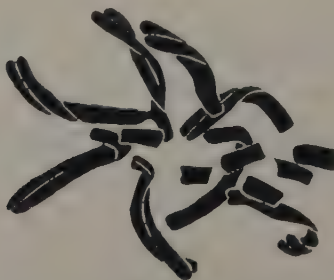


Fig. 16. — *Haworthia Jacobseniana* v. P.
Metafase numa célula do meristema radicular.
Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700

13. *Haworthia Jonesiae* v. P.

Observámos algumas metafases em células de vértices vegetativos de raízes, tendo verificado que a espécie é diplóide, com 8 grandes e 6 pequenos cromosomas (Fig. 17).

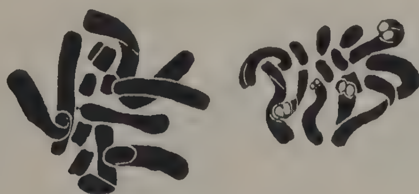


Fig. 17. — *Haworthia Jonesiae* v. P.
Metafases em células de meristemas radiculares.
Carnoy. Feulgen. aprox^{te}. × 1700.

15. *Haworthia Herrei* v. P.

Nesta espécie consideram-se duas variedades, var. *Poellnitzii* Res. e var. *depauperata* v. P., cujo número de cromosomas determinámos. A variedade *depauperata* tinha já sido estudada por RESENDE (1938) que lhe atribuiu, com dúvida (pois não conseguiu contar os cromosomas pequenos), o grau hexaplóide; nós confirmamos a hexaplòidia pela contagem de 42 cromosomas nas mitoses das células dos seus meristemas radiculares. Quanto ao número cromosómico da variedade *Poellnitzii*, encontrámos células, as mais freqüentes, com 8 cromosomas grandes e 6 pequenos, o que nos leva a afirmar que a variedade é diplóide; mas também tivemos ocasião de observar algumas células com um número muito superior a 14, que não pudemos contar com exactidão — trata-se, evidentemente, de um caso de mixoplòidia.

Estas duas variedades são extremamente parecidas, no que diz respeito à sua morfologia externa. Por isso, surpreende à primeira vista tão grande diferença no número de cromosomas; atendendo, porém, aos casos já prèviamente descritos, êste apoia mais uma vez a verificação que, no género *Haworthia*, o processo poliplóide contribui muito pouco para as diferenciações das espécies.

16. *Haworthia rubrobrunea* v. P.

A contagem de 20 cromosomas grandes nas células dos meristemas radiculares, faz supôr que esta espécie seja pentaplóide.

17. *Haworthia Resendeana* v. P.

Em 1937, RESENDE dava esta espécie como triplóide, com 21 cromosomas, número que confirmou em 1938.

Nas preparações de meristemas radiculares por nós observadas,



Fig. 18. — *Haworthia Resendeana* v. P.
Metafase numa célula do meristema radicular.
Carnoy. Feulgen. aprox[te]. × 1700.

era evidente a existência de 12 grandes cromosomas nas suas células; a contagem, na mesma célula (Fig. 18), de 12 cromosomas grandes e 9 cromosomas pequenos, permitiu-nos confirmar a afirmação daquele autor.

18. *Haworthia Eilyae* v. P.

Dentro desta espécie considera RESENDE duas variedades: var. *Poellnitziana* Res. e var. *Zantnereana* Res. O estudo cariológico que delas fizemos permitiu-nos averiguar que ambas são diplóides; nas células da var. *Poellnitziana* contámos 14 cromosomas, e nas da var. *Zantnereana* só pudemos contar os 8 cromosomas grandes.

19. *Haworthia Armstrongii* v. P.

Esta espécie é hexaplóide; assim nos convencemos depois das contagens que efectuámos em células de meristemas radiculares.

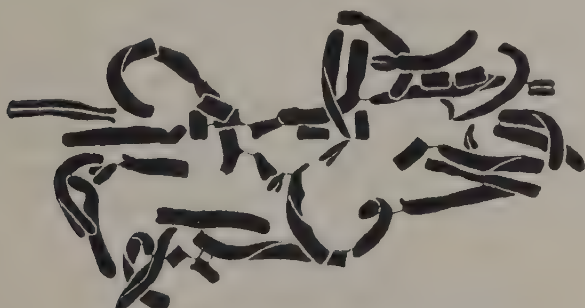


Fig. 19. — *Haworthia Armstrongii* v. P.
Metafase numa célula do meristema radicular. Repare-se na abundância de aglutinação cromática.
Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

Para o efeito, era particularmente nítida a metafase que observámos na célula representada na Fig. 19. A confirmação do número cromosómico foi-nos dada pela observação de metafases em grãos de pólen, pois aqui contámos o número 21 de cromosomas, dos quais 12 grandes e 9 pequenos (Fig. 20).

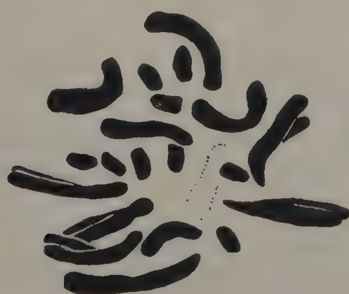


Fig. 20. — *Haworthia Armstrongii* v. P.
Grão de pólen em metafase da primeira divisão.
Carmim acético. aprox.te × 1700.
Um dos grandes cromosomas não foi correctamente desenhado.

20. *Haworthia glauca* Bak.

O número cromosómico desta espécie foi determinado por RESENDE em 1938 que observou a existência de 29 cromosomas nas suas células somáticas.

Nas observações efectuadas por nós, verificámos a existência de 16 cromosomas grandes e 12 pequenos, o que prova que a espécie é tetraplóide. RESENDE (1938) contou, pois, os cromosomas dum indivíduo aneuplóide. É provável que a origem desta hipertetraplòidia seja idêntica à que sugerimos para a hiperpentaplòidia apresentada pela espécie *Haworthia Sampaiana* Res. (v. Cap. IV).

21. *Haworthia Lisbonensis* Res. (1)

Para a determinação da guarnição cromosómica desta espécie, observámos metafases de células de vértices vegetativos de raízes

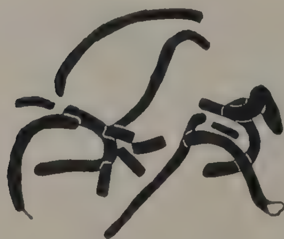


Fig. 21. — *Haworthia Lisbonensis* Res. Metafase numa célula do meristema radicular. Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.



Fig. 22. — *Haworthia Lisbonensis* Res. Grão de pólen em metafase da primeira divisão. Carmim acético. aprox.te × 1700.

(Fig. 21) e confirmámo-la pela contagem feita em radículas e ainda em mitoses em grãos de pólen (Fig. 22). Podemos assim atestar que a espécie é diplóide.

(1) — A descrição desta espécie encontra-se num trabalho, em publicação, de RESENDE e PINTO LOPES — Suculentas africanas IV.

Haworthia Herrei v. P. × ***Haworthia Reinwardtii*** Haw. var. ***minor*** Bak.

A contagem de cromosomas, em metafases de células meristemáticas radiculares (Fig. 23), permite dizer que êste híbrido é diplóide.

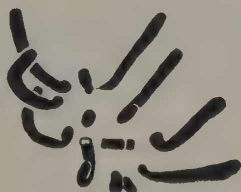


Fig. 23. — *Haw. Herrei* × *Haw. Reinwardtii* var. *minor*. Um dos pólos de anafase numa célula do meristema radicular. Carnoy. Feulgen. aprox.[te] × 1700.

Pode-se agora deduzir qual tenha sido a variedade da *Haworthia Herrei* cruzada com a variedade *minor* da *Haworthia Reinwardtii* para se obter esta forma. Como as duas variedades conhecidas naquela espécie são, uma diplóide e a outra hexaplóide, e como a *Haw. Reinwardtii* var. *minor* é diplóide, é fácil supôr que, para o cruzamento, se utilizou a variedade *Poellnitzii* ($2n = 14$).

Haworthia Jacobseniana v. P. × ***Haworthia Reinwardtii*** Haw. var. ***minor*** Bak.

Esta forma é também diplóide (Fig. 24), como a anterior e como os progenitores. Êste resultado, que obtivemos pela observação de preparações de meristemas radiculares, serve também para confirmar a nossa contagem de 14 cromosomas na espécie *Haworthia Jacobseniana* v. P.

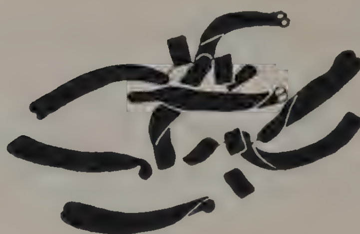


Fig. 24. — *Haw. Jacobseniana* × *Haw. Reinwardtii* var. *minor*
Metafase numa célula do meristema radicular.
Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

Encontram-se, pois, na secção *Coarctatae* do género *Haworthia*, formas diplóides, triplóides, tetraplóides, pentaplóides e hexaplóides, constituindo uma série poliplóide natural completa; além destas formas euplóides, encontram-se também formas aneuplóides, ou, pelo menos, algumas formas podem apresentar indivíduos aneuplóides.

A Tabela III, que resulta das investigações aqui relatadas, apresenta as diferentes formas da Secção *Coarctatae*, aqui estudadas, agrupadas segundo os respectivos graus de poliplòidia, os quais são dispostos por ordem crescente de forma a mostrar a organização da série poliplóide.

IV—AGLUTINAÇÃO CROMÁTICA

Aglutinação cromática é o têrmo propôsto por RESENDE em 1941, para designar ligações kalymmaticas entre cromosomas. Ele atribui as suas causas a um especial desenrolar da mitose devido « a qualquer perturbação do metabolismo da evolução nuclear da profase para a metafase » (l. c., pág. 172). Êste autor desconhece ainda as causas desta perturbação; no entanto, êle pôde refutar as ideias até então emitidas para a sua explicação. Até àquela data, a coalescência intercromatídica na anafase — única fase onde então era conhecida — era considerada como patológica e atribuida a diferentes agentes (raios X, etc.). RESENDE observou-a, porém, em tecidos normais.

No referido ano de 1941, RESENDE apontou como consequência

TABELA III

Grau de poliplòidia	Formas
Diplóides 2n = 14	*Haw. Kewensis* v. P.
	Haw. Lisbonensis Res.
	Haw. Reinwardtii Haw. var. *minor* Bak.
	Haw. Reinwardtii Haw. var. *adelaidensis* v. P.
	Haw. Reinwardtii Haw. var. *fallax* v. P.
	Haw. Reinwardtii Haw. var. *major* Bak.
	Haw. Reinwardtii Haw. var. *Triebnerii* Res.
	Haw. Herrei v. P. var. *Poellnitzii* Res.
	Haw. Jonesiae v. P.
	Haw. Jacobseniana v. P.
	Haw. Eilyae v. P. var. *Zantnereana* Res.
	Haw. Eilyae v. P. var. *Poellnitzeana* Res.
Triplóides 2n = 21	*Haw. Reinwardtii* Haw. var. *Archibaldiae* v. P.
	Haw. Resendeana v. P.
Tetraplóides 2n = 28	*Haw. Reinwardtii* Haw. var. *conspicua* v. P.
	Haw. Reinwardtii Haw. var. *fallax* v. P.
	Haw. Reinwardtii Haw. var. *Chalwinii* (Marl. et Berg.) Res.
	Haw. Reinwardtii Haw. var. *Haworthii* Res.
	Haw. coarctata Haw. var. *Haworthii* Res. for. *pseudocoarctata* (v. P.) Res.
	Haw. Greenii Bak. for. *minor* Res.
	Haw. Greenii Bak. for. *Bakerii* Res.
	Haw. Carrissoi Res.
	Haw. glauca Bak.
Pentaplóides 2n = 35	*Haw. Broteriana* Res.
	Haw. rubrobrunea v. P.
	Haw. Rewendettii Uit.
Hiperpentaplóide 2n = 36	*Haw. Sampaiana* Res.
Hexaplóides 2n = 42	*Haw. coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res.
	Haw. coarctata Haw. var. *Krausii* Res.
	Haw. Armstrongii v. P.
	Haw. Herrei v. P. var. *depauperata* v. P.

desta aglutinação cromática a formação de pseudopontes; estas poderiam, por sua vez, provocar, em virtude da tracção polar, a distensão simétrica do corpo dos cromosomas (região pachykalymmatica) ou do filamento satelífero (parte olistherocromática) ou de ambos. Poderia também aquela aglutinação originar cromosomas retardatários. A conseqüência mais interessante da aglutinação cromática está, porém, na origem de um novo tipo de verdadeiras pontes oríginadas numa distensão assimétrica dos cromatídeos.

Nêsse trabalho, êste autor refere aglutinação cromática em várias espécies de Angiospérmicas, entre as quais uma pertencendo à secção *Coarctatae*, *Haworthia Herrei* v. P.; e descreve ligações kalymmaticas em metafases, em anafases e em telofases.

Depois de 1941, os únicos trabalhos que se referem ao assunto e de que temos conhecimento são o de DARLINGTON (1942) e o de OESTERGREN (1944). DARLINGTON atribui o aspecto «sticky» (= aglutinação) a uma perturbação do metabolismo do ácido nucleico dos cromosomas, e OESTERGREN encontra um «efficient chemical for the induction of the sticky chromosomes»; êste autor chega à conclusão que a concentração de 1/2 mol de glicol etileno e concentrações superiores a esta, são capazes de provocar aglutinação dos cromosomas (stickness) e alterações idênticas às produzidas pela colquicina.

O nosso material não foi submetido a nenhum tratamento prévio; o material por nós estudado consta de plantas vivendo em cultura dentro de estufas e ao ar livre do Jardim Botânico de Lisboa. E aqui observámos casos de aglutinação em meta-, ana- e telofases, *em quási tôdas as formas estudadas*. Pràticamente, pode dizer-se que tôdas as formas, onde se observa uma grande quantidade de mitoses, mostram uma maior ou menor percentagem de aglutinação cromática.

Aglutinação em metafases

Grande parte das figuras apresentadas no capítulo anterior constitui exemplos de metafases em que os cromosomas estão unidos por ligações kalymmaticas; observam-se vários graus de aglutinação, apresentando a Fig. 25 o caso mais extremo que encontrámos nas nossas preparações. Nesta célula, do vértice vegetativo

de *Haworthia Lisbonensis* Res., as ligações de aglutinação interessam todos os cromosomas com excepção de um (v. Fig. 25, *b*).

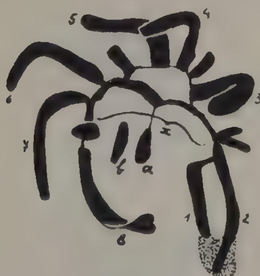


Fig. 25. — *Haw. Lisbonensis* Res.
Metafase numa célula do meristema radicular; note-se o filamento cromático *x*, cuja orientação parece ser dada pelas numerosas ligações aos outros cromosomas.
Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

Apresenta ainda a figura outros factos dignos de referência: o aparecimento dum nucléolo nesta metafase, e a existência duma massa cromática (*x*) cuja origem é difícil de interpretar. É provável que se trate dum cromosoma que, já por aglutinação existente na mitose anterior, tivesse sido arrastado para êste núcleo, dando assim origem a uma célula hiperdiplóide; todavia, também pode pensar-se que se trate duma grande distensão do cromosoma que na figura designámos com o algarismo 2.

Aglutinação em anafases

Em anafases, também a aglutinação de cromosomas é freqüente; nos casos por nós observados, os dois cromosomas homólogos apresentam-se unidos tôpo a tôpo, e, assim, originam uma pseudo-ponte que, por vezes, obriga a distensão do corpo dos cromatídeos.

Êstes casos, em que há aglutinação e distensão de cromosomas, como os representados, por exemplo, nas figs. 26, 27 e outras não desenhadas, sugerem as seguintes considerações:

O kalymma consta de proteínas básicas e ácido timonucleico (SERRA, e QUEIROZ LOPES, 1944). Estas nucleoproteínas periféricas, depositadas durante a profase, não devem ter a estrutura fibrosa,



Fig. 26. — *Haw. Carrissoi* Res.
Anafase numa célula do meristema radicular; dois cromosomas homólogos, coalescentes tôpo a tôpo, apresentam-se distendidos. Carnoy. Feulgen. aprox.te $\times$ 1700.

ao contrário dos cromonemata. As experiências de dissolução da matriz dos cromosomas metafásicos (ver bibliografia cit. SERRA, 1942) demonstram que há diferença entre estas proteínas e a dos

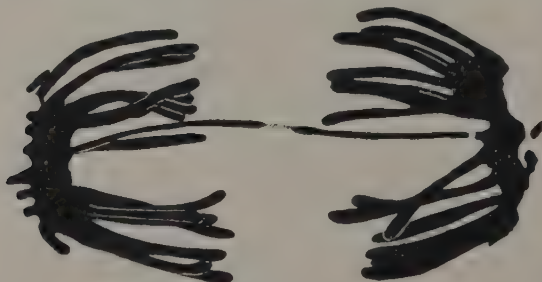


Fig. 27. — *Haw. Greenii* Bak. for. *Bakerii* Res.
Anafase numa célula do meristema radicular; repare-se na distensão dos dois cromatídeos aglutinados e na fractura de um deles. Carnoy. Feulgen. aprox.te $\times$ 1700.

cromonemata. Sendo assim, é provável que o kalymma conste de uma espécie de gel nucleoproteico em que as moléculas não estão

orientadas, mas antes se encontram sob uma forma desordenada (SERRA, inédito).

Deve ser por esta razão que, como RESENDE (1941) pretende, os cromonemata destituídos de kalymma são mais extensíveis do que nas zonas pachykalymmaticas, pois se explicaria assim que o kalymma não pode ser extensível como os cromonemata e, conseqüentemente, que diminui a extensibilidade dêstes naquelas zonas. Daqui se deveria já inferir que as zonas constituídas só por kalymma (filamentos de aglutinação, sem cromonemata) são menos extensíveis do que quando aquêle envolve cromonemata. Se a ligação entre os dois cromosomas fôsse mais extensível do que o corpo do cromosoma, não se dava a distensão dêste; ora, o que se observa é que os cromosomas metafásicos, ou ambos os cromatídeos homólogos na anafase, se distendem, permanecendo ligados um ao outro por um filamento curto.

Do que acabamos de expôr, se conclui que há uma série de extensibilidade constituída por três têrmos, que se pode representar, por ordem crescente, do seguinte modo:

Zona kalymmatica (kalymma) filamento de aglutinação, sem cromonemata.	→	*Zona pachykalymmatica* (cromonemata + + kalymma) corpo do cromosoma.	→	*Zona a* — ou *olistherokalymmatica* (cromonemata) olistherozonas nucleolares ou anucleolares.

Aglutinação sem distensão observa-se, por exemplo, na Fig. 28.

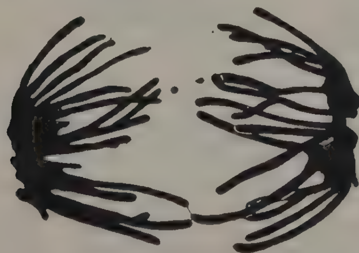


Fig. 28. — *Haw. Greenii* Bak. for. *minor* Res.
Anafase numa célula do meristema radicular.
Carnoy. Feulgen. aprox.^{te} $\times$ 1700.

A Fig. 23 representa um caso em que a ligação se dá entre cromosomas do mesmo pólo da anafase.

Na Fig. 29 observa-se distensão dos filamentos satelíferos numa célula de *Haworthia Broteriana. Res.*

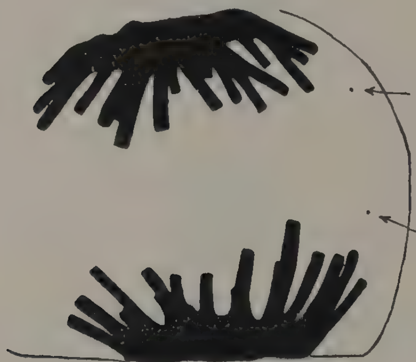


Fig. 29. — *Haw. Broteriana* Res.
Anafase numa célula do meristema radicular; as setas indicam a posição dos satélites.
Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

Pontes telofásicas

Além de pseudo-pontes, conhecem-se dois tipos de verdadeiras pontes: 1) pontes formadas por fusão de cromonemata e 2) pontes originadas por distensão assimétrica dum dos cromatídeos.

A Fig. 30 representa células com núcleos em telofases e várias pontes entre aquelas que nós tivemos a oportunidade de observar.

Não é possível dizer, com precisão, qual a origem destas pontes, pois, nesta fase, não podemos distinguir as extremidades proximais dos cromosomas e, portanto, não sabemos se se trata de pontes do primeiro ou do segundo tipo. Em nenhuma destas pontes se observa a existência de fragmentos.

A Fig. 31 apresenta uma anafase onde se observa uma ponte, sem dúvida originada pela fusão dos cromonemata e conseqüente

distênsão dos cromatídeos. Ao lado desta ponte, vê-se um fragmento; não é fácil encontrar uma explicação para o seu modo de formação. Em todo o material estudado não encontrámos nenhum outro caso semelhante a êste (comp. com a figura 1 *d* de KLINGSTEDT, 1938).

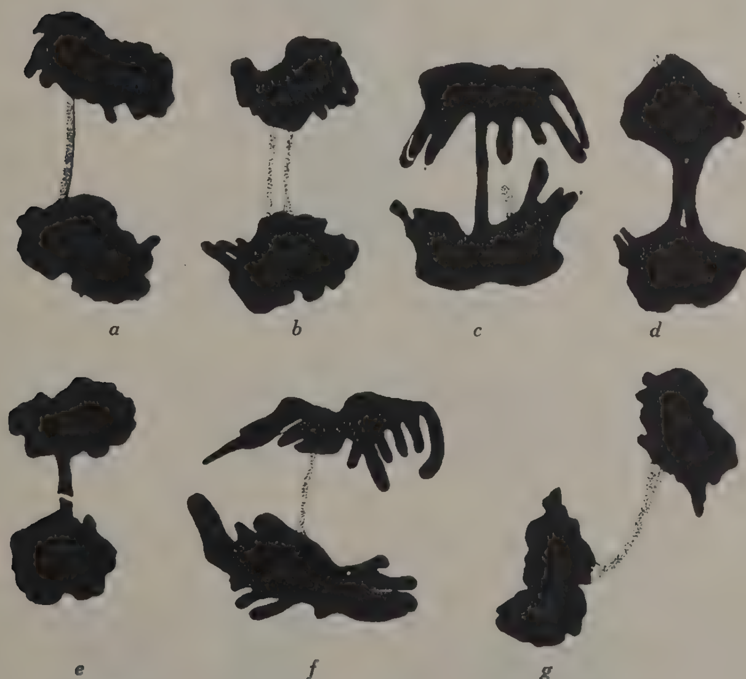


Fig. 30. — Pontes telofásicas : *a-e*, *Haw. Sampaiana* Res. ; *f*, *Haw. Armstrongii* v. P. ; *g*, *Haw. glauca* Bak. Células de meristemas radiculares. Carnoy. Feulgen. aprox.te $\times$ 1400.

Não observámos no nosso material nenhuma ponte cuja origem pudesse correctamente ser atribuída a distensão assimétrica de um dos cromatídeos.



Fig. 31. — *Haw. Reinwardtii* Haw. var. *Chalwinii* (M. et B.) Res. Anafase numa célula do meristema radicular, mostrando uma ponte muito distendida devida a fusão dos cromonemata (de dois cromatídeos irmãos), e um fragmento.
Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

Outra possível conseqüência da aglutinação é o impedir o movimento dos cromosomas coalescentes para os pólos, o que pode conduzir à formação de micronúcleos, pela forma que vamos relatar:

Origem de micronúcleos em meristemas somáticos

Além da formação de pontes, é conseqüência da aglutinação o aparecimento de cromosomas retardatários: quando os dois cromatídeos não se distendem, nem se quebra a ligação (não ou pouco extensível) que os mantém unidos, então êsses cromatídeos, devido a qualquer circunstância que não podemos precisar (talvez independência da acção do fuso, que não deixe fazer normalmente o movimento polar), não entram na constituïção de nenhum dos núcleos filhos e vão originar um micronúcleo.

Até hoje, só pudemos surpreender a formação de micronúcleos, como conseqüência da aglutinação, numa célula do meristema radicular de *Haworthia Sampaiana* Res., que é representada na Fig. 32. Em muitas outras células, observámos telofases apresentando, sempre mais próximo de um dos núcleos irmãos, um micronúcleo (Fig. 33). Também aqui, a origem dos micronúcleos não podia ter sido outra

senão a aglutinação; quanto a nós, êstes casos não devem representar mais do que estados mais evoluídos daquele.

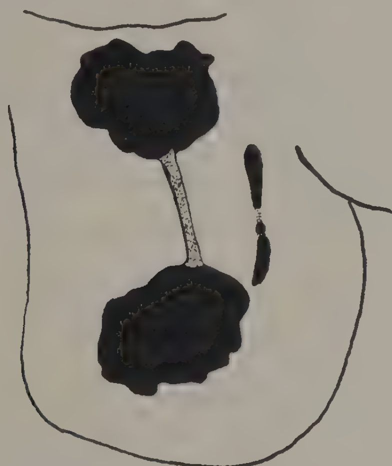


Fig. 32. — *Haw. Sampaiana* Res.
Telofase numa célula do meristema radicular, onde se vêem dois cromatídeos irmãos, retardatários devido a aglutinação, que não entram na constituïção dos grupos polares. Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

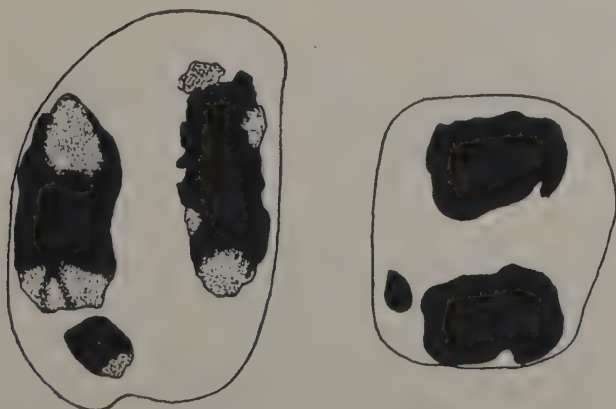


Fig. 33. — *Haw. Sampaiana* Res.
Telofases em células do meristema radicular, mostrando em cada célula um micronúcleo. Carnoy. Feulgen. aprox.te × 1700.

Por êste processo, as células-filhas, provenientes de células que, como já dissemos, têm 21 cromosomas grandes, tornam-se ambas pentaplóides; além disso, uma destas células comportará ainda um micronúcleo. Não sabemos se o micronúcleo degenera ou, no caso contrário, como se comporta na mitose seguinte. Dois casos se nos afiguram possíveis: ou a aglutinação não se mantém e os dois cromatídeos ficam submetidos à influência do fuso — e os núcleos filhos terão novamente 21 cromosomas grandes, ou os cromatídeos permanecem aglutinados e origina-se um novo micronúcleo.

Fig. 34. — Esquema que representa a possível origem de formas com 21 cromosomas a partir de formas com 20 cromosomas e na qual teve grande influência a existência de aglutinação cromática; interpretação esquemática da origem e comportamento do micronúcleo nas células aneuplóides. Explicação no texto.

Talvez isto nos permita agora explicar a origem das formas com 21 cromosomas grandes (Fig. 34): não repugna acreditar que as ,primeiras células com 21 cromosomas se tenham originado a partir de células pentaplóides em que os dois cromatídeos aglutinados entrem na constituïção cromosómica dum dos núcleos. O outro núcleo ficaria com 19 cromosomas e, possivelmente, estas células não seriam viáveis. Aquela perturbação mitótica (independência da acção do fuso?), que nem sempre se manifesta, e pela qual as células-filhas têm 20 cromosomas, poderia muito bem ser uma

reminiscência do estado pentaplóide anterior. No entanto, devemos afirmar que nunca observámos células com 19 ou 20 cromosomas grandes nas nossas preparações. Por outro lado, já o caso observado em *Haworthia Lisbonensis* Res. (Fig. 25) sugere esta dedução, segundo a qual nos é permitido tornar a aglutinação cromática responsável pelo aparecimento de formas hiperplóides. Estas formas podem originar-se tanto por um processo sexuado como por um processo assexuado, como é facil deduzir-se.

V — GERMINAÇÃO DOS GRÃOS DE PÓLEN

Como é do conhecimento geral, nas Angiospérmicas, o grão de pólen maduro ou contém dois núcleos — um, o vegetativo, de forma esférica e pouco corável, e outro, o núcleo gerador, geralmente alongado e muito corável — ou contém já três núcleos em conseqüência da divisão do núcleo gerador no grão do pólen. Sabe-se também que o grão de pólen, ao germinar, emite um tubo polínico onde, a dada altura, o núcleo gerador dos grãos de pólen binucleados se divide, originando os dois núcleos espermáticos.

Em tôda a bibliografia, referente ao assunto, que pudemos consultar, e em livros de texto de carácter geral, encontrámos *uma série de afirmações, algumas das quais contraditórias, a respeito do comportamento dêstes núcleos,* as quais podemos sintetizar da seguinte maneira:

— O núcleo vegetativo é o primeiro a migrar para o tubo polínico e é seguido pelo núcleo gerador (por ex.: COOPER, 1935; FIRBAS, 1942, pág. 455, fig. 618; GOLA, NEGRI e CAPPELLETTI, 1943; WETTSTEIN, 1944, pág. 536, fig. 378).

— *Nos raros casos descritos* em que há inversão desta ordem, o núcleo vegetativo vai passar à frente do gerador e colocar-se na extremidade do tubo polínico quando êste tiver determinado comprimento (comp. SCHNARF, 1941, pág. 153).

— O núcleo vegetativo pode preceder ou seguir o núcleo gerador através do tubo (SHARP, 1934, pág. 209; PODDUBNAJA-ARNOLDI, 1936) ou permanecer no grão de pólen (PODDUBNAJA-ARNOLDI, 1936 — veja-se aqui bibliografia anterior) ou podem caminhar paralelos (ibid.).

— O núcleo vegetativo preside ao crescimento do tubo polínico (por ex. BRANSCHEIDT, 1939; comp. também HEIM, 1939).

— O núcleo vegetativo não desempenha nenhum papel como estímulo ou regulador do crescimento do tubo (PODDUBNAJA-ARNOLDI, 1936, pág. 528).

— O núcleo gerador é arrastado pela corrente citoplasmática no tubo polínico (por ex. PODDUBNAJA-ARNOLDI, 1936).

— O núcleo gerador tem movimento activo independente da corrente do tubo. Já a sua forma indica mobilidade (WULFF, 1933; WULFF e MAHESHWARI, 1937; et alt.).

— O movimento do núcleo gerador no tubo polínico é devido à acção de vacúolos (comp. SHARP, 1934).

— A divisão do núcleo gerador nos dois gametas masculinos ocorre algumas vezes no grão de pólen (STRASSBURGER, 1888; WULFF, 1934; HEITZ e RESENDE, 1936; PODDUBNAJA-ARNOLDI, 1936; et alt.) antes de ser libertado da antera, mas provàvelmente com mais freqüência no tubo polínico (SHARP, 1934, pág. 209).

— O núcleo gerador penetra no tubo polínico quando êste tem um certo comprimento; a sua divisão está também relacionada com o comprimento do tubo (STRAUB, 1939, pag. 359).

O estudo do gamobionte masculino apresentou-se-nos, por isso, não só interessante para o nosso ponto de vista particular do estudo do Secção *Coarctatae* do género *Haworthia*, mas também como um problema de ordem geral.

Estudámos a germinação de micrósporos, o desenvolvimento do tubo polínico e o comportamento dos núcleos, gerador (1) e vegetativo, nas seguintes espécies:

Haworthia Broteriana Res.

($2n = 35 = 5x$)

Fizemos cultura de grãos de pólen sôbre uma solução aquosa de gelatina, sacarose e agar-agar, à temperatura do ambiente (24°).

(1) Nunca empregaremos aqui a expressão «célula geradora» por não termos posto em evidência a existência de citoplasma gerador.

A germinação iniciou-se ao fim de quinze minutos. Preparações coradas ao fim de 60 minutos mostram o que a Fig. 35 apresenta:

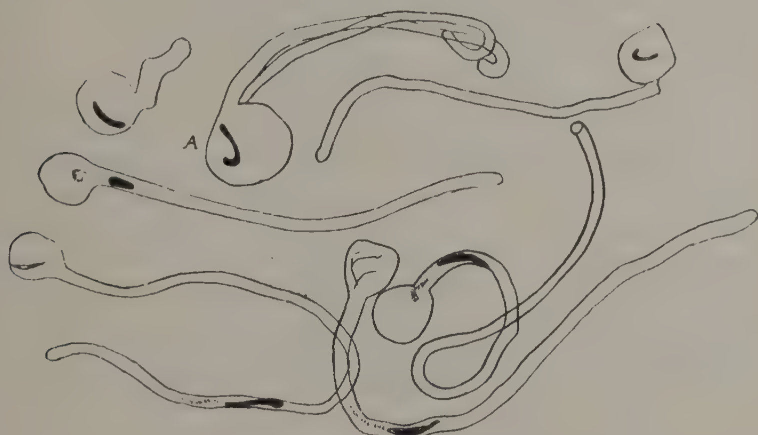


Fig. 35. — *Haw. Broteriana* Res.
Germinação de grãos de pólen, ao fim de 60 minutos de cultura. Em muitos casos, com objectivas fracas, não se observa o núcleo vegetativo (1). Carmim acético. aprox.te × 150.

São mais vulgares os casos em que o *núcleo gerador ocupa no tubo polínico uma posição à frente do núcleo vegetativo.* Em muitos casos o núcleo vegetativo não é aparente. Ao fim do tempo indicado, não se observa ainda nenhuma divisão do núcleo gerador. Êste é encontrado em profase no tubo polínico, e a maior parte das vezes *no grão de pólen não germinado*, e por vezes alonga-se extraordináriamente. Não se verifica relação precisa entre o comprimento do tubo e o momento de migração do núcleo gerador, ocorrendo casos em que êste se mantem no grão de pólen apesar de o tubo polínico ter já grande comprimento; nunca vimos, porém, que o núcleo gerador migrasse num tubo de comprimento igual a menos do que seis vezes o diâmetro dos grãos de pólen.

Quanto ao núcleo vegetativo, êste degenera no tubo polínico,

(1) Representaremos sempre os núcleos vegetativos a pontuado e os núcleos geradores a negro.

aparecendo a massa cromática como que dispersa no citoplasma do tubo.

Um grão de pólen de dimensões superiores ás normais formou dois tubos polínicos (Fig. 35, A); nêste caso o núcleo gerador ainda está no grão de pólen e o vegetativo não é visível.

Haworthia Carrissoi Res.

($2n = 28 = 4x$)

As culturas de grãos de pólen fôram feitas sôbre um meio constituído por um soluto aquoso de gelatina a 7 % e sacarose a 5 %, à temperatura do ambiente (22°); ao fim de 5 minutos assiste-se ao rebentar dos grãos de pólen, sendo o conteúdo projectado a distância. Ensaiámos outra cultura sôbre gelatina, sacarose e gelose; nêste caso, ao fim de 25 minutos não havia nenhuma germinação e uma nova observação, ao fim de 60 minutos, mostra (Fig. 36) grãos germinados, alguns já com grandes tubos polínicos.

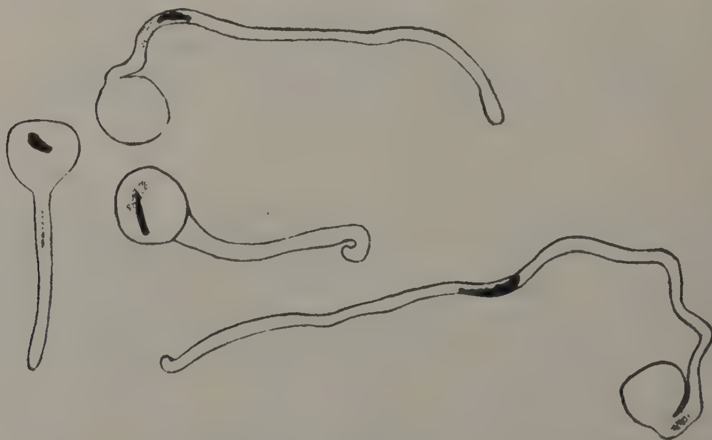


Fig. 36. — *Haw. Carrissoi* Res.
Germinação dos grãos de pólen ao fim de 60 minutos de cultura.
Carmim acético. aprox.te × 175.

Na maioria dos casos observa-se que o núcleo gerador é o primeiro a migrar, ás vezes muito tempo antes do núcleo vegetativo, e *apresenta-se em profase quer já no grão de pólen quer no tubo polínico.*

Ao fim de três horas e meia observámos o seguinte: a-par de grãos de pólen ainda não germinados e de outros no início da germinação, há muitos tubos polínicos que estão enormes e formam na cultura e na preparação um emaranhado que lembra micélio. Na sua grande maioria, os tubos estão já separados dos grãos de pólen, talvez pela pressão da lamela, mas pode perceber-se qual é a extremidade do tubo e constatar-se que os núcleos ocupam qualquer posição. Nêstes tubos compridos também se observa com muita freqüência a divisão do núcleo gerador; não determinámos, porém, a extensão mínima do tubo a partir do qual se dá esta divisão.

Haworthia Kewensis v. P.

(2 n = 14 = 2 x)

Cultivámos os grãos de pólen sôbre o meio de gelatina com sacarose e agar-agar, à temperatura do ambiente (23 °).

A germinação inicia-se ao fim de 20 minutos; desenhámos (Fig. 37) diferentes aspectos da germinação passados 30 minutos, 60 minutos e 4 horas e 40 minutos; raríssimas vezes conseguimos

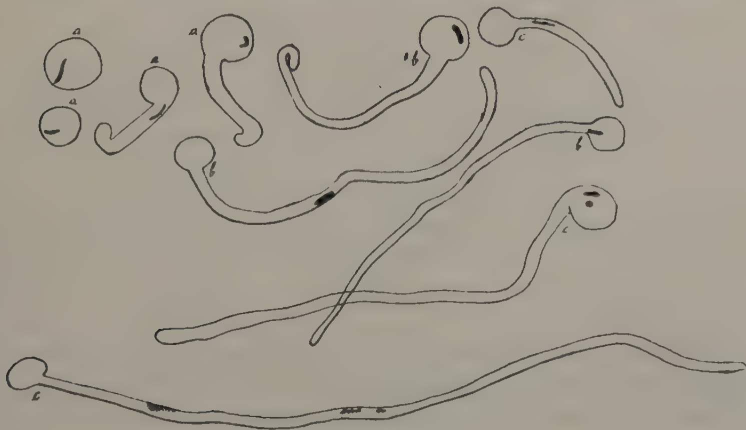


Fig. 37. — *Haw. Kewensis* v. P.
Germinação dos grãos de pólen: *a*, ao fim de 30 minutos; *b*, ao fim de 60 minutos; e *c*, passadas 4 horas e 40 minutos de cultura. Carmim acético, aprox.te × 120.

observar o núcleo vegetativo. Quanto ao núcleo gerador, verificámos que a sua migração no tubo polínico é nìtidamente independente do comprimento do tubo.

Haworthia Reinwardtii Haw.

a) var. *minor*

$(2n = 14 = 2x)$

Cultivámos grãos de pólen de anteras já velhas, isto é, cuja deiscência já há muito tinha começado, sôbre os seguintes meios de cultura: 1) gelatina, sacarose e gelose; 2) gelatina, sacarose e ácido bórico; e 3) gelatina e sacarose. Ao fim de uma hora observámos algumas germinações neste último meio e nenhuma nos outros, mas ali mesmo os tubos polínicos engrossam na extremi-

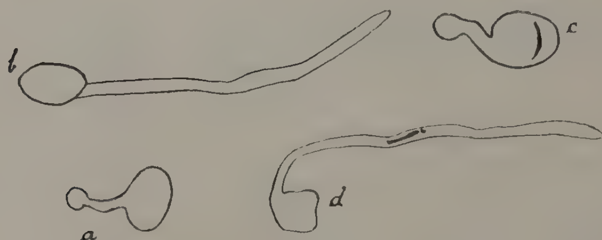


Fig. 38. — *Haworthia Reinwardtii* Haw. var. *minor* Bak. Germinação dos grãos de pólen ao fim de 70 minutos de cultura. *a, b, in vivo; c, d,* em preparação corada com carmim-acético. aprox.te × 175.

dade e rebentam. Passadas duas horas, vemos que, no segundo daqueles meios, os tubos polínicos se apresentam com formas bizarras, enrolados, em zigue-zague, espatulados; nesta altura ainda não tinha germinado nenhum grão de pólen no meio constituído por gelatina, sacarose e gelose.

Empregando a técnica de coloração pelo carmim-acético, não conseguimos observar núcleos vegetativos (Fig. 38).

b) var. *Haworthii* Res.
(2 n = 28 = 4 x)

Ao estudarmos a germinação dos grãos de pólen da variedade *minor*, empregámos apenas flôres em que a deiscência das anteras se tinha dado já havia muito, pois, na ocasião da experiência, só conseguimos obter flôres murchas, e não tornámos a observar outra inflorescência. No entanto, os resultados obtidos com o emprêgo de vários meios de cultura levaram-nos a procurar saber se o estado de deiscência da antera teria influência no comportamento da germinação e no desenvolvimento do tubo polínico. Para isso,

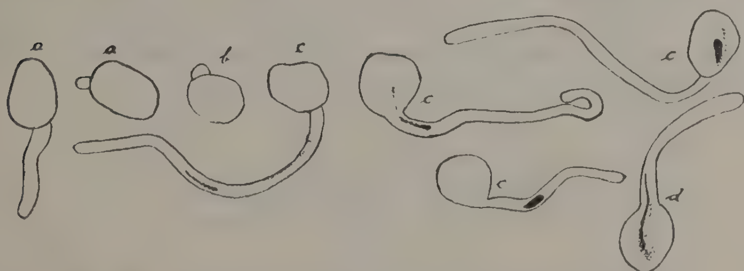


Fig. 39.— *Haworthia Reinwardtii* Haw. var. *Haworthii* Res. Germinação dos grãos de pólen. *a*, ao fim de 20 minutos; *b*, ao fim de 30 minutos; *c*, ao fim de 40 minutos; *d*, ao fim de 110 minutos, de cultura. *a* e *b*, *in vivo;* as restantes, em preparação corada com carmim-acético. *b*, de flor murcha; as restantes, de flôres novas. Carmim-acético. aprox.te × 160.

ao ensaiarmos esta variedade *Haworthii* da mesma espécie Haw. Reinwardtii, utilizámos um único meio de cultura, composto por gelatina, sacarose e agar-agar, sôbre uma gôta do qual cultivámos, separadamente dum e outro lado, grãos de pólen de duas flôres, uma nova em que a deiscência tinha começado havia pouco e outra já murcha (Fig. 39). *Ao fim de vinte minutos já havia germinações na flor nova, e passados trinta minutos raros grãos de pólen da flor velha tinham germinado; a velocidade de crescimento do tubo polínico era aqui muito menor*; em observações feitas depois de duas horas e depois de seis horas de cultura não conseguimos ver grãos da flor velha germinados. Depois destas obser-

vações, atribuímos as irregularidades verificadas na variedade *minor* ao estado fisiológico dos grãos de pólen particular das flôres já murchas.

Nos grãos de pólen da flor nova observa-se que: os núcleos migram por qualquer ordem, qualquer dêles atraz do outro ou paralelos. Na maioria dos casos há um tamanho de tubo polínico a partir do qual o núcleo gerador migra, mas há muitos casos em que essa migração é independente do comprimento do tubo; o núcleo vegetativo dispõe-se bizarramente no tubo polínico, estirando-se de encontro à parede; o *núcleo gerador encontra-se em profase já em grãos de pólen não germinados.* Não observámos um único caso em que o núcleo gerador se tivesse dividido no grão de pólen, germinado ou não; passados 40 minutos, não havia ainda divisão do núcleo gerador no tubo polínico. Ao fim de seis horas, os tubos polínicos estão do mesmo tamanho. Não observámos aqui ainda divisão do núcleo gerador.

Haworthia coarctata **Haw.**
var. ***Haworthii*** **Res.**
for. ***major*** **Res.**
($2n = 42 = 6x$)

Fizemos um estudo mais detalhado desta forma e desenhámos maior número de aspectos da germinação dos grãos de pólen não só porque tinhamos muitas flôres à nossa disposição, mas também porque se tratava duma forma hexaplóide onde poderiam mostrar-se mais evidentes as diferenças com as formas de menor grau de poliplòidia.

A princípio cultivámos grãos de pólen de flôres já murchas, depois experimentámos com os de flôres novas. No primeiro caso verificámos que: 1) a germinação se efectua ao fim de algumas horas; 2) o núcleo vegetativo percorre o tubo polínico à frente do núcleo gerador ou atrás, ou entre os dois núcleos espermáticos; 3) a entrada do núcleo gerador não tem nada que ver com o comprimento do tubo polínico; 4) o núcleo gerador divide-se dentro do grão de pólen, germinado ou não, ou em qualquer posição do tubo polínico (Figs. 40, 42 e 43).

Quando cultivámos grãos de pólen duma flor ainda aberta

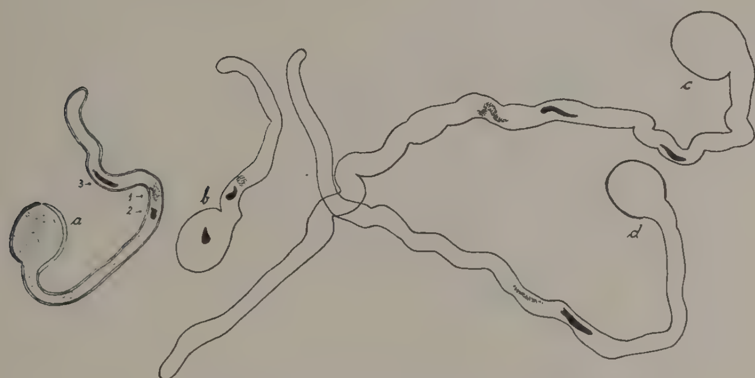


Fig. 40. — *Haworthia coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res. Germinação de grãos de pólen de flôres velhas, ao fim de 15 horas e meia de cultura. Em *a*, vê-se o núcleo vegetativo (1), no iníco da sua desorganização, entre os dois núcleos espermáticos (2 e 3); êstes apresentam-se de tamanhos diferentes. Nos outros casos o núcleo vegetativo vai à frente do núcleo gerador; em *b* e *c*, o núcleo gerador já se dividiu; em *d*, o núcleo gerador, num tubo polínico muito maior do que o representado em *b*, apresenta-se em profase. Carmim-acético. aprox.te × 120.

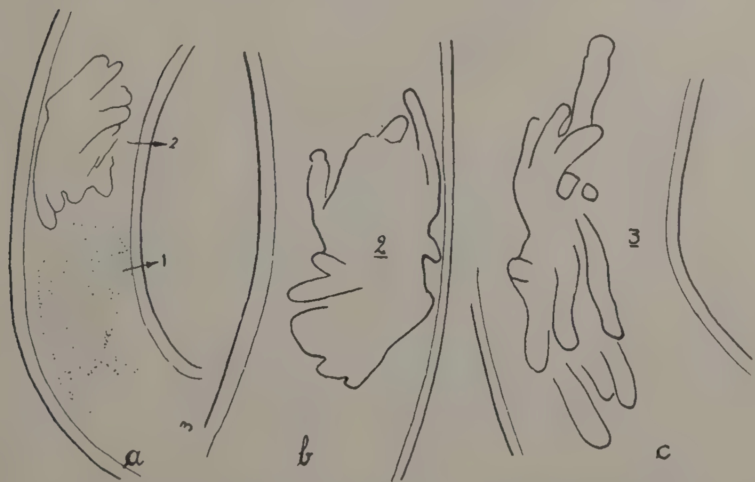


Fig. 41.— *Haworthia coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res. Os números 1, 2 e 3 correspondem aos números da fig. 40a. *a* × aprox.te 1700; *b* e *c* × aprox.te 2800.

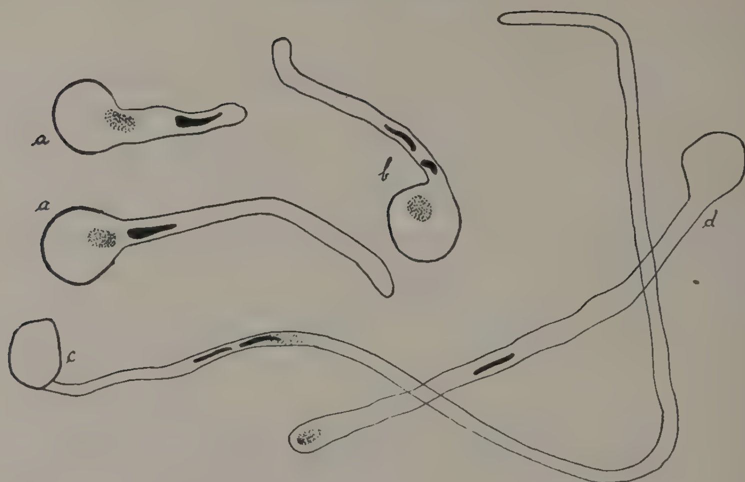


Fig. 42. — *Haworthia coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res. Germinação de grãos de pólen duma flor velha, passadas 18 horas de cultura. Em *a*, o núcleo gerador precede o vegetativo; em *b* e em *c*, o núcleo gerador já se dividiu, enquanto que em *d*, em que o tubo polínico é muito maior do que em *b*, o núcleo gerador ainda não se dividiu e foi precedido pelo vegetativo. Carmim-acético. × aprox.te 160.

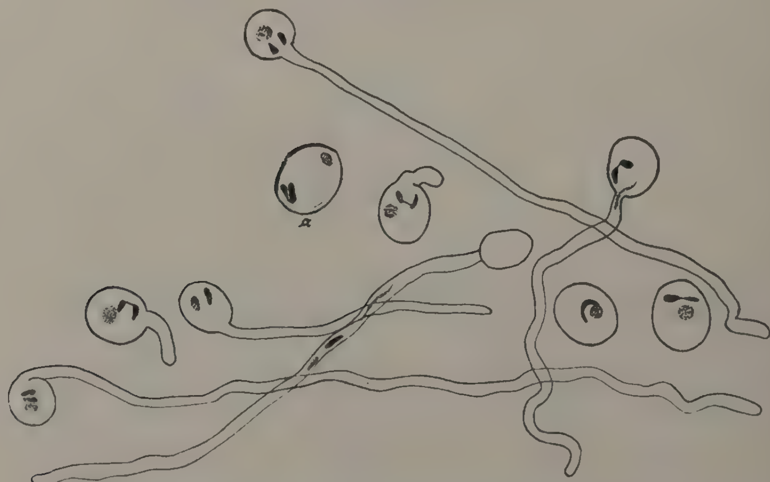


Fig. 43.— *Haworthia coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res. Germinação dos grãos de pólen duma flor velha, ao fim de 21 horas de cultura; em *a*, representa-se um grão de pólen ao fim de 40 horas de cultura. Repare-se nas pontes que ligam os núcleos provenientes da divisão de cada núcleo gerador. Carmin-acético. aprox.te × 120.

(Fig. 44), verificámos: 1) ao fim de 15 minutos já os grãos de pólen estão germinados; 2) o núcleo gerador penetra no tubo polínico antes ou depois do núcleo vegetativo; 3) não se observa nenhuma divisão do núcleo gerador, quer no grão de pólen quer no tubo polínico; a migração dos núcleos é independente do comprimento do tubo.

Observámos com maior ampliação os núcleos representados na Fig. 40a e verificámos que os núcleos espermáticos estão a iniciar outra divisão, encontrando-se naquela ocasião já em metafase (Fig. 41).

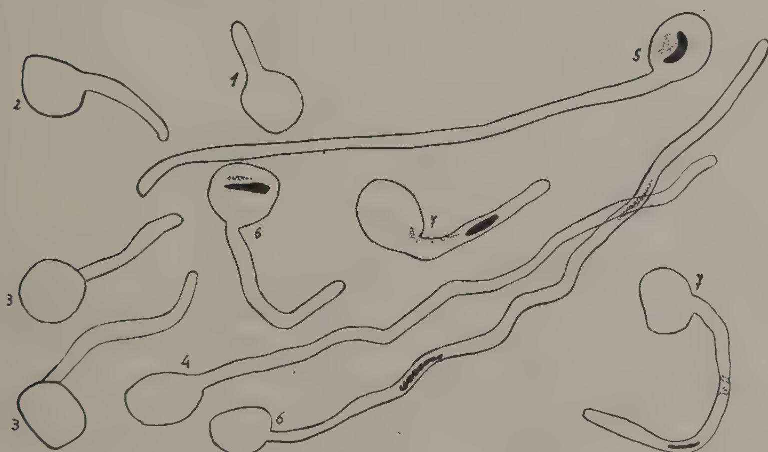


Fig. 44. — *Haworthia coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res. Flor nova. 1, 2, 3 e 4 respectivamente ao fim de 15, 20, 30 e 45 minutos de cultura; observação *in vivo*. 5, 6 e 7, passados 45, 50 e 105 minutos; observação em preparações coradas pelo carmim acético. aprox.te $\times$ 160.

Haworthia coarctata Haw.
var. *Haworthii* Res.
for. *pseudocoarctata* (v. P.) Res.
($2n = 28 = 4x$)

Os grãos de pólen duma flor murcha que cultivámos sôbre um meio de cultura artificial não tinham ainda germinado ao fim de quinze horas. Cultivámos em seguida grãos de pólen duma flor

nova e observámos diferentes estados de germinação. Pudemos verificar que a germinação se inicia ao fim de 15 minutos e que a entrada dos núcleos no tubo polínico se faz por qualquer ordem (Fig. 45).

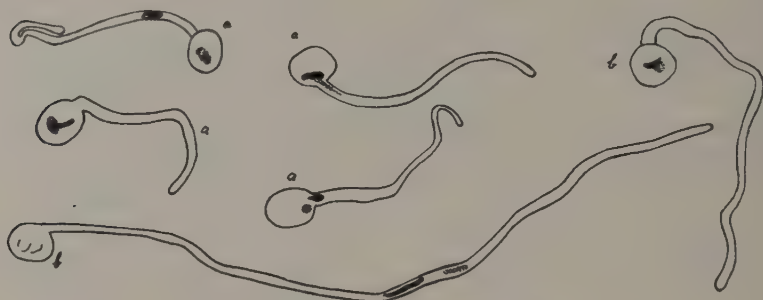


Fig. 45. — *Haworthia coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *pseudocoarctata* (v. P.) Res. Germinação de grãos de pólen. *a*, ao fim de 30 minutos de cultura; *b*, ao fim de 80 minutos. Carmim acético. aprox.^{te} $\times$ 130.

Ao fim de 80 minutos de cultura, vimos ainda muitos grãos de pólen não germinados e alguns tubos polínicos muito compridos e normais, enquanto que outros se apresentam espiralados. Assim que o tubo atinge certo comprimento, a porção que fica mais próxima do grão de pólen estreita-se e desorganiza-se. Verificámos que, nalguns tubos polínicos, o núcleo gerador se apresenta em profase.

Nunca observámos núcleos espermáticos.

Haworthia Greenii Bak.
for. *minor* Res.
(2 = 28 = 4 x)

Ao fim de 15 minutos de cultura, já há grãos de pólen germinados.

Na fig. 46 apresentamos alguns casos observados na germinação dos grãos de pólen de flôres desta forma. Desenhámos apenas os casos em que o núcleo vegetativo era aparente, mas, na sua maioria, não distinguimos êste núcleo empregando a técnica de coloração pelo carmim acético e observando com objectivas fracas;

com objectiva de imersão consegue-se ver o núcleo vegetativo muito pouco corado, muito estendido, como que desorganizado.

Verificámos que o núcleo gerador se encontra em profase no tubo polínico e que migra quer antes quer depois do núcleo vegetativo. Fizemos outra preparação quando já tinham passado 3 horas e 25 minutos depois da cultura e observámos o seguinte: muitos grãos de pólen estão ainda no início da germinação; num caso, o núcleo gerador já ocupa a extremidade do tubo e o vegetativo ainda se encontra no grão de pólen.

Nunca observámos núcleos espermáticos, nem mesmo em tubos muito compridos.

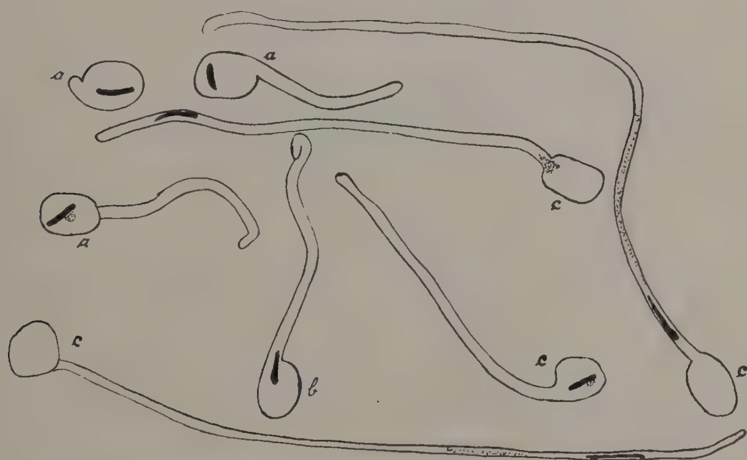


Fig. 46. — *Haworthia Greenii* Bak. for. *minor* Res. Germinação dos grãos de pólen. *a*, ao fim de 25 minutos; *b*, ao fim de 40 minutos; *c*, ao fim de 80 minutos de cultura. Carmim acético. aprox.te × 160.

Haworthia Armstrongii v. P.
(2 = 42 = 6 x)

Foi esta a primeira espécie em que estudámos a germinação dos grãos de pòlen. Na cultura utilizámos anteras velhas e empregámos meios líquidos (sol. aq. de sacarose a 5 %; sol. aq. de sacarose a 5 % e ácido bórico a 0,01 %; sol. aq. de sacarose a 10 % e ácido bórico a 0,01 %; sol. aq. de sacarose a 15 % e ácido bórico

a 0,01 %; sol. aq. de ácido bórico a 0,01 %; água destilada; água da torneira) e meios sólidos liquificáveis (sol. aq. de gelatina e sacarose; sol. aq. de gelatina, sacarose e gelose; sol. aq. de gelatina, sacarose e ácido bórico; sol. aq. de gelose, sacarose e ácido bórico).

Sôbre os meios líquidos, com excepção da água da torneira em que as germinações eram raras mesmo ao fim de 18 horas de cultura, os grãos de pólen germinaram quási imediatamente a

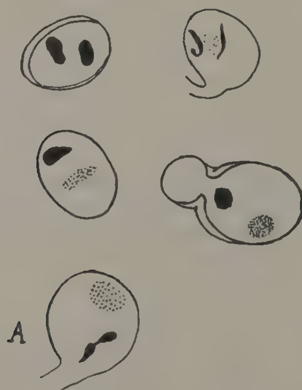


Fig. 47. — *Haworthia Armstrongii* v. P.
Grãos de pólen aofim de 21 horas de cultura. Não figuramos os tubos polínicos. Carmim acético. aprox.te $\times$ 175.

seguir á «sementeira», não tendo nunca demorado mais de cinco minutos a germinar.

Não conseguimos obter colorações nucleares, pelo carmim acético, nos grãos de pólen nem nos tubos polínicos que cresciam néstes meios líquidos; por esta razão, não prosseguimos com o estudo nestes meios.

Quanto aos meios sólidos, verificámos que a percentagem de germinações era maior no meio constituído por gelose, sacarose e ácido bórico.

Numa preparação, feita passadas 21 horas de cultura, notámos o seguinte (Fig. 47):

— a ordem de migração dos núcleos é qualquer;

— a entrada do núcleo gerador no tubo polínico dá-se no

começo da germinação ou já quando o tubo tem grande desenvolvimento.

— o núcleo gerador pode dividir-se no grão de pólen não germinado ou já germinado (não tomámos nota se o gerador se pode dividir no tubo polínico).

— é grande a percentagem de grãos de pólen trinucleados.



Fig. 48. — *Howarthia Armstrongii* v. P.
Núcleo gerador da figura anterior (A). aprox.te × 1700.

A Fig. 48 mostra uma maior ampliação do núcleo gerador do grão de pólen representado na figura anterior. Um núcleo gerador com êste aspecto, «biskuitförmige Kerne», que vimos também em *Haworthia coarctata* var. *Haworthii* for. *major* (Fig. 43), foi encontrado por PODDUBNAJA-ARNOLDI (1936, pág. 511, fig. 4) em material radiado de *Pisum sativum* L., (núcleos «die den sich amitotisch Kernen ähnlich sind»).

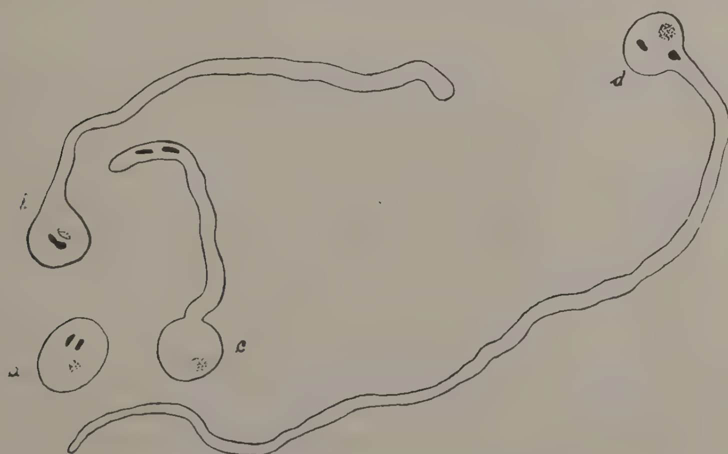


Fig. 49. — *Haworthia Armstrongii* v. P.
Grãos de pólen ao fim de 36 horas de cultura. Note-se em *b* o estrangulamento do núcleo gerador. Carmim acético. aprox.te × 150.

Fizemos nova observação ao fim de 36 horas (Fig. 49); entre os casos observados, verificámos que o núcleo gerador se pode dividir no grão de pólen não germinado (a), ou que a divisão se efectua quando o tubo polínico já tem grande comprimento (b); encontrámos também um caso (c) em que o núcleo vegetativo permanece no grão de pólen, e os dois núcleos espermáticos estão já na extremidade do tubo polínico, e outro (d) em que os três núcleos permaneciam no grão de pólen, apesar de o tubo polínico ter um comprimento muito grande. A percentagem de grãos trinucleados era grande.

Só mais tarde tivemos a explicação de algumas irrregularidades observadas no comportamento dos núcleos dos grãos de pólen desta espécie, mas que aqui já apontámos quando tratámos da *Haw. Reinwardtii* var. *Haworthii* — devem ser atribuídas ao facto de termos cultivado grãos de pólen procedentes de anteras velhas

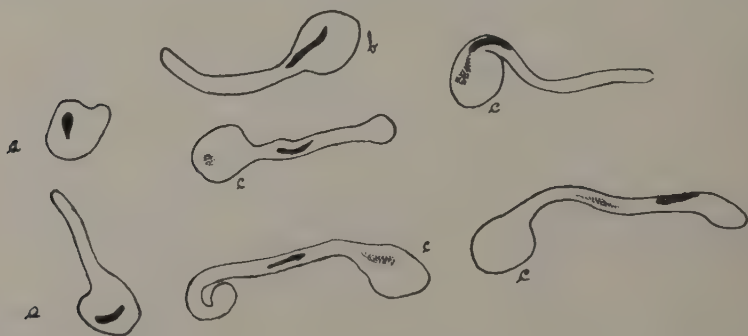


Fig. 50. — *Haworthia glauca* Bak.
Germinação de grãos de pólen em meio de cultura artificial.
a, ao fim de 25 minutos; *b*, ao fim de 40 minutos; *c*, ao fim de 65 minutos decultura. Carmim acético. aprox.te $\times$ 175.

Haworthia glauca Bak.

$(2n = 28 = 4x)$

Cultivados sôbre um soluto aquoso de gelatina, sacarose e agar-agar, os grãos de pólen começam a germinar passados 12 minutos.

Ao examinar as culturas, nota-se grande percentagem de tubos polínicos com as extremidades irregulares, sem que tenhamos podido encontrar a razão dêste facto. Por não termos tido mais

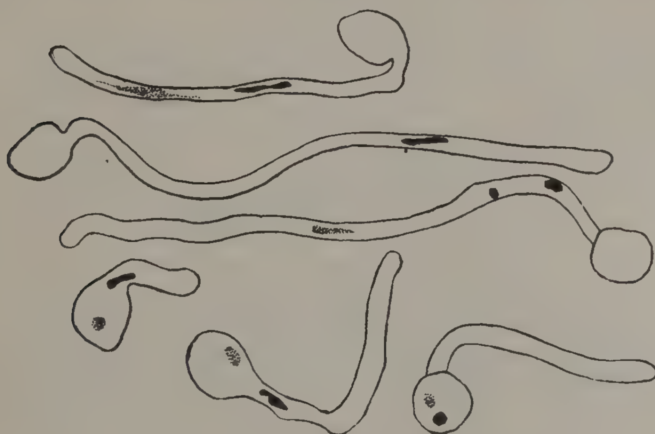


Fig. 51. — *Haworthia glauca* Bak.
Grãos de pólen ao fim de 17 horas e 35 minutos de cultura. Carmim acético. aprox.te × 175.

flôres à nossa disposição, não pudemos ensaiar, como desejávamos, outros meios de cultura.

Nas figuras 50 e 51 representamos alguns casos observados.

Haworthia Lisbonensis Res.

(2n = 14 = 2 x)

Muitos grãos de pólen iniciaram a sua germinação ao fim de 10 minutos, quando foram cultivados sôbre um soluto aquoso de gelatina, sacarose e ácido bórico. No meio de cultura constituido por um soluto aquoso de gelatina e sacarose, a maior parte dos tubos polínicos dilata-se ou enrola-se na extremidade, embora muitas vezes se mostre normal. Os tubos polínicos desenvolvem-se normalmente no meio de um soluto aquoso de gelatina, sacarose e gelose. Fizemos observações em preparações coradas ao fim de três horas (Fig. 52) e passadas 23 e 24 horas (Fig. 53).

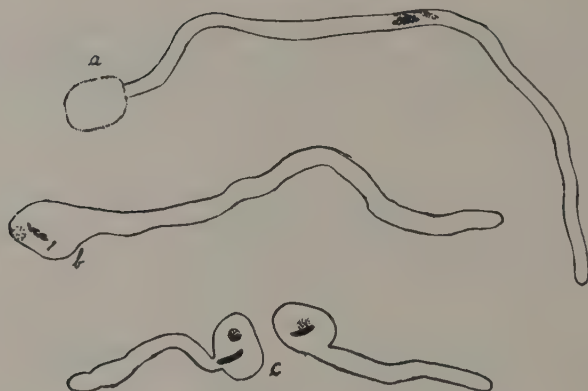


Fig. 52. — *Haworthia Lisbonensis* Res.
Germinação de grãos de pólen, ao fim de 3 horas de cultura sôbre sol. aq. de gelatina, sacarose e agar. Em *a*, nota-se o núcleo gerador em profase no tubo polínico ao lado do núcleo vegetativo; em *b*, observa-se, separada do núcleo gerador, que se apresenta em profase no grão de pólen, uma pequena massa cromática; em *c*, vê-se o início da migração do núcleo gerador num tubo muito curto. Carmim acético. aprox^{te}. × 175.

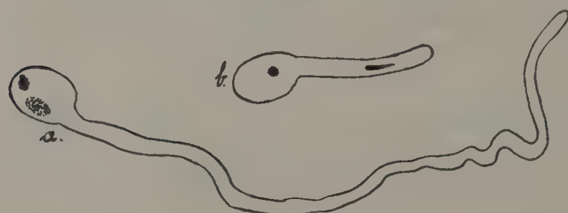


Fig. 53. — *Haworthia Lisbonesis* Res.
Germinação de grãos de pólen: *a*, ao fim de 23 horas de cultura — núcleo gerador em profase, no grão de pólen; apesar de o tubo polínico estar muito comprido, os núcleos ainda não migraram; *b*, ao fim de 24 horas de cultura sôbre gelatina, sacarose e agar; o núcleo gerador já migrou num tubo polínico muito pequeno. Cramim acético. aprox.^{te} × 175.

Os híbridos *Haw. Henriquesii* × *Haw. Eilyae*, e *Haw. Herrei* × × *Haw. Reinwardtii*, de que estudámos a germinação dos grãos de pólen, não mostraram, sob êste ponto de vista, comportamento diferente do das outras formas, como se verifica pela observação das Figs. 54 e 55. As culturas foram feitas sôbre gelatina, sacarose e agar.

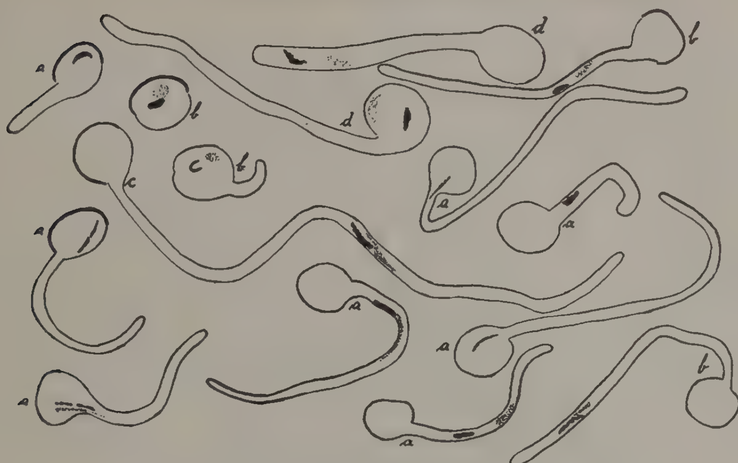


Fig. 54. — *Haworthia Henriquesii* × *Haworthia Eilyae*.
Germinação de grãos de pólen em meio de cultura artificial: *a*, ao fim de meia hora; *b*, ao fim de uma hora e meia; *c*, ao fim de duas horas; *d*, ao fim de três horas de cultura. Observa-se que o núcleo gerador se apresenta em profase, quer dentro do grão de pólen germinado quer no tubo polínico, quer no início da migração; vêem-se tubos nos quais o núcleo gerador precede o vegetativo, e outros em que se dá o contrário, e até pode a migração ser simultânea. Não se vêem núcleos espermáticos. Carmim acético. aprox.te × 160.

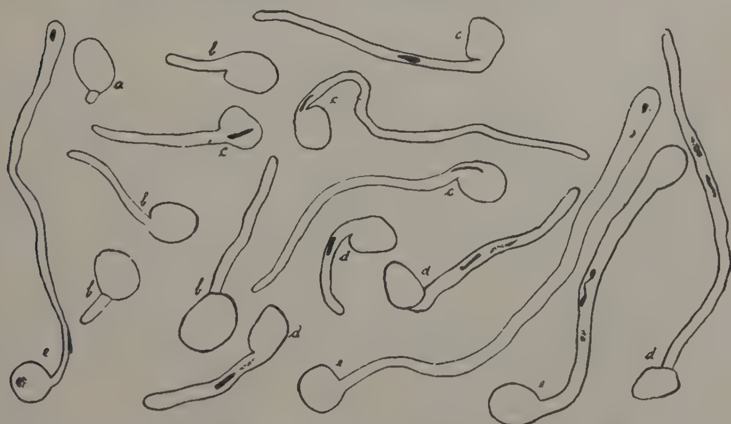


Fig. 55 — *Haworthia Herrei* × *Haworthia Reinwardtii*
Germinação de grãos de pólen em meio de cultura artificial: *a*, ao fim de 15 minutos; *b*, ao fim de 30 minutos; *c*, ao fim de 37 minutos; *d*, ao fim de 1 hora; *e*, ao fim de 26 horas. Em *e* nota-se a divisão do núcleo gerador nos dois núcleos espermáticos. *a* e *b*, observações *in vivo*, as restantes, em preparações coradas pelo carmim acético. aprox.te × 150.

VI — DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

1. — Sôbre a guarnição cromosómica, nas diferentes formas

O estudo da guarnição cromosómica, nas diferentes formas desta Secção, mostra que a esta se estende a constância do número haplóide de cromosomas, característica das *Aloinae* até hoje estudadas (cêrca de 200 espécies). Na verdade, tôdas as formas que estudámos, com excepção de uma, aneuplóide, apresentam um número de cromosomas múltiplo do número básico 7. No que diz respeito á morfologia dos cromosomas, não é possível, com excepção das formas nitidamente alopolipóides, distinguir mais do que dois tipos de cromosomas: 4 grandes e 3 pequenos (n).

As nossas observações permitiram-nos também verificar (tabela III) que as formas da Secção *Coarctatae* constituem uma série poliplóide natural na qual estão representados todos os têrmos dêsde 2x até 6x, sendo em maior número as formas diplóides.

Dentro da série poliplóide formada pelas espécies desta Secção, há uma outra, intra-específica, constituida pelas variedades de *Haworthia Reinwardtii* Haw.

Esta Secção não provém, como se poderia supôr (comp. RESENDE 1937 pág. 784 e 1939 pág. 541), duma diferenciação, dentro do género *Haworthia*, causada pela poliplòidia; isto deduz-se não só do facto de haver formas diplóides, como também porque se encontram, dentro da mesma espécie, formas de diferente grau de poliplòidia. Diferentemente do que se passa nalguns agrupamentos (comp. por ex. FERNANDES, 1931) em que a evolução se efectua por modificações no número e na forma dos cromosomas, nesta Secção somos inclinados a crer, como RESENDE (1943) sugere para a generalidade das *Aloinae*, que «as mutações genomáticas têm contribuido menos para a evolução do que as simples mutações de genes».

Das nove formas que tinham sido já estudadas por RESENDE, confirmámos o número cromosómico referente a seis, incluindo uma em que aquele autor tinha dúvidas, e emendámos o número relativo às três restantes. Destas, duas são variedades de *Haw. Reinwardtii* Haw. que com certeza não estavam bem determinadas

no tempo em que RESENDE as estudou do ponto de vista cariológico, e a outra, a *Haw. Sampaiana* Res., não tem 39 ou 40, mas sim 36 cromosomas. Além dêste autor, apenas SATÔ se preocupou com esta Secção, tendo ùnicamente determinado o número 42 para uma forma a que chama *Haw. Reinwardtii* Haw. mas que é certamente *Haw. coarctata* Haw.

Em virtude dos elementos que, pelo estudo cariológico aqui efectuado, trazemos para o conhecimento da poliplòidia nas *Aloinae*, deve corrigir-se a percentagem de poliplóides desde agora conhecidos no género *Haworthia*, a qual, segundo RESENDE, era, em 1940, de 28,8%. Como vimos (Tabela III), há, nesta Secção, 19 formas poliplóides, as quais, adicionadas às 5 já investigadas pertencentes a outras Secções, perfazem o número 24 de poliplóides nas 77 formas cariològicamente estudadas até esta data. Nestas condições, a *percentagem de poliplóides conhecidos no género* **Haworthia** *é, actualmente, de* **31,2%**.

2. — Aglutinação cromática

RESENDE (1941) designa sob o nome de *aglutinação cromática* as ligações superficiais dos cromosomas na metafase ou no mesmo pólo da anafase, ou entre os cromatídeos irmãos na anafase, provando que estas coalescências, cromatídicas ou cromosómicas, interessam apenas o kalymma (comp. já POLITZER, 1934, pág. 25).

Tem sido demonstrado por vários autores que êstes aspectos cromosómicos podem ser induzidos por diferentes agentes patológicos: substâncias químicas (v. por ex. CASTRO, 1942; ÖSTERGREN, 1944), raios X (v. POLITZER, 1934), virus (COUTINHO, 1940, 1942), etc.: CASTRO observa aglutinações em mitoses de células de *Aloe arborescens* L. que sofreram a acção da colquicina; ÖSTERGREN experimenta a acção do glicol etileno sôbre os vértices vegetativos de *Allium cepa* L. e verifica que solutos de glicol etileno em concentrações iguais e superiores a 1/2 mol provocam «stickiness» nos cromosomas. COUTINHO estuda a acção do virus «mosaico das leguminosas» sôbre os cromosomas, encontrando, em metafases e anafases do material tratado, «certas estranhas ligações, como que constituindo «pontes» entre determinadas zonas cromosómicas». Por seu lado, POLITZER tinha já mostrado que a aglutinação se encontrava em material tratado pelos raios X.

Não se conheciam, porém, até 1941, casos em que esta aglutinação aparecesse espontâneamente, isto é, em material não tratado. RESENDE nessa data mostra que em «material de várias espécies, sistemàticamente próximas e afastadas entre si, fixado em condições normais e sem prévio tratamento», se observa a aglutinação cromática em grande número de metafases e de anafases.

Mantêm-se, todavia, em discussão a natureza e as causas destas ligações. Uns autores são de opinião que estas ligações apenas afectam o kalymma, o qual sofre qualquer modificação provocada pela acção de agentes patológicos que torna possíveis fusões superficiais dos cromosomas; outros, como DARLINGTON, pretendem que a aglutinação é devida à não divisão dos cromonemata, cujas causas se devem procurar numa perturbação do metabolismo do ácido nucleico dos cromosomas (DARLINGTON, 1942; comp. também ÖSTERGREN, 1944). É curioso como coincide com esta a explicação que RESENDE já dá, em 1941, a respeito do aspecto dos cromosomas aglutinados: «tem de ser devido a qualquer perturbação do metabolismo da evolução nuclear da profase para a metafase» cujas causas desconhece.

Com RESENDE a aglutinação cromática cresce em importância, pois que êste autor lhe atribui o papel da formação duma nova espécie de verdadeiras pontes, de pseudo-pontes, de cromosomas retardatários, e da distensão dos cromosomas.

As nossas observações levam-nos também a compartilhar da opinião de que a *aglutinação é kalymmatica, aparece com grande freqüência espontâneamente*, e é responsável pelos seguintes aspectos de mitose que observámos em quási tôdas as espécies por nós estudadas:

Distensão

A distensão do corpo dos cromosomas ou dos filamentos satelitíferos (olistherozonas-RESENDE et alt., 1944) dos cromosomas aglutinados dá-se, devido ao movimento dos cromosomas na mitose e à aglutinação que os mantêm unidos. Como a substância de aglutinação é de natureza kalymmatica, não tem a elasticidade dos cromonemata (v. pág. 159) e assim se distendem neste complexo cromático bicinético primeiro as zonas akalymmaticas e olistherokalymmaticas e depois as zonas pachykalymmaticas (Fig. 56).

Os cromosomas podem apresentar-se também aglutinados uns

aos outros na metafase, prova evidente de que os filamentos de aglutinação não interessam os cromonemata (RESENDE, 1937, 1941; COUTINHO, 1940 a, b).

No género *Haworthia* verificámos, pelos estudos aqui realizados, que a aglutinação em metafases se encontra em quási tôdas as formas estudadas, onde é freqüente (v. pág. 156). Estas ligações desfazem-se ainda nesta fase, como observámos (Fig. 6) em *Haworthia Reinwardtii* var. *Chalwinii*.

Na anafase, os cromatídeos irmãos podem permanecer aglutinados, aparecendo a maior parte das vezes com os topos coalescentes; do mesmo modo que na metafase, podem também mostrar-se aglutinados cromatídeos não irmãos no mesmo polo da anafase.

A distensão do corpo dos cromosomas, tanto em meta- como em anafases foi observada com muito menos freqüência, mas pudemos verificar que a sua ocorrência está sempre ligada à existência de aglutinação e que é uma conseqüência desta.

A distensão dá-se umas vezes simètricamente nos dois cromatídeos, formando, na anafase, uma pseudo-ponte com distensão; outras vezes, êstes apresentam-se assimètricamente distendidos, originando-se, neste caso, uma verdadeira ponte (RESENDE, 1941) constituída pelo filamento pachykalymmatico do cromatídeo distendido. Esta distensão, simétrica ou assimétrica, pode também encontrar-se na olistherozona.

Pseudo-pontes

Chama-se pseudo-ponte (RESENDE, 1941) ao aspecto apresentado, na anafase, por dois cromatídeos irmãos aglutinados; na maior parte das vezes são os topos dos cromatídeos que aparecem coalescentes. Quando se dá o afastamento dos dois cromatídeos aglutinados para os grupos polares, o filamento de aglutinação, que, como dissemos, não é extensível ou é pouco, mantem constante ou quási, até quebrar, a distância entre os tôpos dos cromatídeos; a acção do fuso obriga então a que os corpos dos cromatídeos se distendam, nêste caso mais ou menos simètricamente (Fig. 56).

A distinção morfológica entre verdadeiras pontes e pseudo-pontes é quási sempre fácil: aquelas pontes que possuem cromonemata em toda a sua extensão apresentam-se a princípio com calibre sensivelmente igual em todo o comprimento e são igualmente extensiveis em todos os pontos; enquanto que as pseudo-

-pontes, são extensíveis apenas nas zonas cromonemáticas e, por isso, apresentam-se como que estranguladas na porção kalymmatica. Daqui resultam os diferentes aspectos apresentados por umas e outras. No caso em que as pontes se distendem, podem apresentar as maiores irregularidades: umas vezes distende-se a parte média, e as extremidades permanecem com o mesmo calibre, outras vezes são estas que se estiram, deixando a meio uma parte com o antigo diâmetro, ou ainda podem as distensões dar-se em diferentes pontos. Quando os elementos que constituem uma pseudo-ponte se distendem, a ausência de continuidade cromonemática mantem-se evidenciada pelo estrangulamento formado pelos pontos de aglutinação. No entanto, os aspectos apresentados são, por vezes, de difícil interpretação e dão por isso origem a divergência de opiniões. NEVES (1942, pag. 174), por exemplo, na sua fig. 4, distingue pontes e pseudo-pontes, não explicando, porém, as razões que o levaram a diferençar umas das outras; apesar disso, podemos confirmar a exactidão do seu critério, pois as «pontes» (união de cromonemata) apresentam-se muito distendidas com calibre quási igual em toda a extensão, enquanto que as «pseudo-pontes» apresentam apenas «coalescência de topos de cromatídeos». Mas já em *Ranunculus Flammula* L. (inédito) não tem justificação, segundo nós, quando afirma que as pontes por êle observadas (fig. 14 *c*, *d*, *e*) são «devidas certamente a coalescência da matriz dos cromosomas»; o grande estiramento que essas pontes telofásicas apresentam a meio faz antes pensar que não sejam pseudo-pontes, como aquele autor pretende, mas verdadeiras pontes cuja origem não podemos dizer qual tenha sido. O estiramento que elas apresentam não é próprio da matriz que, como dissemos, é muito pouco extensível, mas deve ser atribuído a uma zona pachykalymmatica. O facto da distensão ter conduzido á formação dum filamento muito fino não prejudica esta ideia, visto que é preciso ter em mente que os cromonemata podem estar aí completamente desenrolados e que, mesmo nêste caso, êles são ainda extensiveis devido à sua natureza fibrosa. LEMOS-PEREIRA (1942) não explica a origem das pontes que observou em *Nigella ciliaris* DC., nem se refere a aglutinação; no entanto, a sua fig. 20 *b* e *c* apresenta dois cromatídeos que se distenderam devido a coalescência dos seus tôpos.

Apesar de tudo isto, tem-se admitido a mesma origem para

pontes e pseudo-pontes. Assim, DARLINGTON e UPCOTT (1941) englobam sob o mesmo nome de «sister reunions» e consideram o

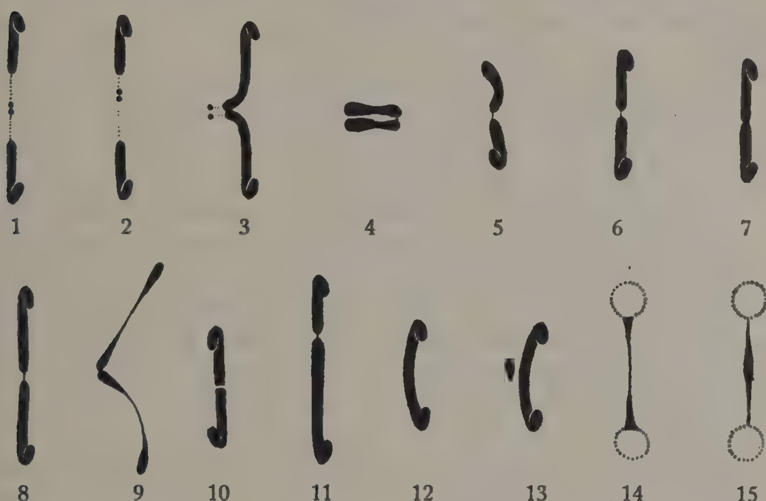


Fig. 56. — Arranjo esquemático que resume os principais aspectos de pseudo-pontes e de pontes observados em anafases de células somáticas:

1. — Pseudo-ponte formada pela aglutinação entre os satélites com conseqüente distensão, simétrica, dos filamentos satelitíferos.

2. — Pseudo-ponte formada pela aglutinação entre os satélites com conseqüente distensão, assimétrica, dos filamentos satelitíferos.

3. — Pseudo-ponte formada pela aglutinação e conseqüente distensão dos corpos dos doiscromatídeos satelíferos, sem distensão dos filamentos. A sua existência, prevista por RESENDE, não está ainda comprovada.

4, 5, 6, 7. — Pseudo-pontes formadas por aglutinação, sem distensão, dos topos dos dois cromatídeos irmãos.

8, 9. — Pseudo-pontes formadas pela aglutinação e conseqüente distensão, simétrica, dos corpos dos dois cromatídeos.

10. — Aspecto que mostra a quebra do filamento da aglutinação existente (anteriormente) entre os topos dos dois cromatídeos.

11. — Pseudo-ponte formada por aglutinação e conseqüente distensão assimétrica, dum dos cromatídeos.

12. — Ponte formada pela união dos cromonemata nos dois cromatídeos irmãos; ausência de fragmento.

13. — O mesmo que 12, mas com fragmento.

14. — Ponte formada pela não divisão de cromonemata ou pela distensão assimétrica de um dos cromatídeos com a parte média, do cromosoma que se distendeu, muito esticada; ou então é uma pseudo-ponte em que a distensão se deu nos pontos ligados pela aglutinação e, se assim fôr, aquêle filamento muito fino é constituido no meio por filamento kalymmatico e nos lados por cromonemata e kalymma.

15. — Ponte formada pela união de cromonemata em que se distenderam as partes medianas de ambos os cromatídeos.

efeito da mesma causa, umas e outras; por exemplo, a sua fig. 1 apresenta, em *a*, duas pseudo-pontes típicas *(Tulipa praecox)*, enquanto que em *b* se observa uma ponte *(Tulipa saxatilis)*, sem dúvida originada por fusão de cromonemata.

Pontes

São verdadeiras pontes, provocadas pela aglutinação cromática, tôdas aquelas em que a aglutinação tenha originado a distensão assimétrica dum dos cromatídeos.

As pontes dêste tipo confundem-se em telofase com as pontes do outro tipo (fusão de cromonemata), único considerado até o trabalho de RESENDE em 1941. Particularmente naqueles casos em que, na metafase e na anafase, seja freqüente a coalescência dos cromatídeos, as pontes que se observem em ana- e telofases e onde se não distingam as extremidades dos cromatídeos, não podem de modo nenhum ser classificadas como pertencendo a um ou a outro dêstes dois tipos.

Quando se verifique a existência de distensão duma ponte entre dois grupos telofásicos, não podemos também indicar a sua origem, pois pode acontecer que aquela parte média corresponda à parte media dum cromatídeo que se tenha distendido assimètricamente — e então pode tratar-se dum ou doutro tipo de pontes, ou que seja correspondente às extremidades de dois cromatídeos que se estão distendendo na zona de contacto — e estaremos na presença duma pseudo-ponte.

As pontes podem apresentar ao seu lado fragmentos (Fig. 31), ou não (v. fig. 56); a presença de fragmentos, em tecidos somáticos, constitui outro problema para o qual não encontramos explicação.

Cromosomas retardatários. Micronúcleos.

Tem sido várias vezes relatado o aparecimento, na anafase, de cromosomas retardatários, devido à formação de pontes por fusão de cromonemata (comp. por ex. DARLINGTON e UPCOTT, 1941) e tem-se verificado que êsses cromosomas dão origem a micronúcleos (por ex. FERNANDES e NEVES, 1941). RESENDE (1941) atribui também à aglutinação a formação de retardatários. Nunca até hoje, se relacionaram, porém, os três factos: aglutinação, cromosomas retardatários e micronúcleos; nós pudemos verificar esta sucessão

em *Haworthia Sampaiana* Res., em virtude do que, pensamos poder dar outra explicação a alguns factos observados por outros autores. Por ex.: FERNANDES e NEVES (1941) encontram um cromosoma supranumerário em *Narcissus Bulbocodium* L. e estudam o seu comportamento na mitose. Figuram então casos em que, na anafase, os cromatídeos em estudo migram regularmente para os pólos e, ao lado dêstes, outros casos em que o cromosoma « ne subit pas la disjonction anaphasique et demeure dans le cytoplasme (fig. 17 c) où il donne naissance à un micronoyau » ; outras vezes, segundo os autores, « il engendre des ponts anaphasiques qui résultent, comme les figures 18 a-c le montrent, de la soudure des extremités des branches courtes des deux chromatides-fils. Une figure (fig. 18 d) nous a montré précisement que cette soudure est une conséquence de la fusion des extrémités des chromonemata des deux chromatides ». Quanto às pontes, dizem êstes autores: « Il est probable que ces ponts soient rompus dans certains cas et que les deux portions résultantes soient incluses dans les deux groupes anaphasiques. Plus souvent, cependant, ils persistent dans le cytoplasme et, s'ils se trouvent suffisamment écartés du plan équatoriel, ils sont convertis directement en un seul micronoyau ».

Em face do que dissemos àcérca da aglutinação e das suas conseqüências, podemos atribuir todos êstes casos à aglutinação cromatídica, explicando-os da mesma forma que para o caso por nós observado em *Haworthia Sampaiana*: dois cromatídeos podem não se separar devido a aglutinação, nem se distender, comportando-se na anafase como retardatários, e dando finalmente origem a um micronúcleo; se a coalescência entre os cromatídeos, em vez de inibir completamente a acção do fuso acromático, a impede só até certo ponto, então os cromatídeos distendem-se e formam uma pseudo-ponte, mas acabando sempre por originar um micronúcleo. *As « pontes » constituidas par êstes cromatídeos e observadas por* FERNANDES e NEVES *(l. c.) não são, quanto a nós, verdadeiras pontes originadas por fusão de cromonemata em regiões de rotura. A sua origem, assim como a dos micronúcleos deve estar antes na aglutinação cromática,* embora esta, por sua vez, possa ter dado origem a roturas donde resultam também pontes por fusão de cromonemata (comp. RESENDE, 1941).

Até hoje os diversos autores não se aperceberam ainda da

freqüência da aglutinação cromática em tecidos normais e, não a observando ou não lhe ligando importância teem, quanto a nós, diagnosticado mal a origem das pontes e dos micronúcleos que observam nos seus objectos. Neste caso de FERNANDES e NEVES, em que a freqüência de pontes é de 12,5 %, é muito mais verosímil considerar a sua orígem na aglutinação cromática do que o facto de cura incompleta no zigoto de regiões de fractura (comp. RESENDE, 1941) determinadas na meiose por crossing-over em zonas de inversão, e isto muito principalmente depois que MC CLINTOCK (1940) demonstrou que no zigoto a «cura» se efectua de facto.

Atendendo a que à aglutinação se deve atribuir a origem dos micronúcleos de *Narcissus Bulbocodium* L. (FERNANDES e NEVES, l. c.), é inclusivamente muito mais fácil deduzir-se a origem das formas de 26 cromosomas a partir das de 28, assim como o aparecimento de formas com 27 cromosomas (ver na pág. 164 como explicámos em *Haworthia Sampaiana* Res. a variação somática do número de cromosomas). Quando tratámos da origem da *Haw. Sampaiana* Res. sugerimos (v. pág. 164 e fig. 34) também que o micronúcleo poderia na mitose seguinte reorganizar os cromosomas de que resultou, os quais poderiam manter-se aglutinados ou separarem-se; isto encontra-se afinal confirmado pelas observações feitas por NEVES (inédito) em *Ranunculus ophioglossifolius* Villars e em *R. arvensis* L., em telofase II.

Não queremos discutir a formação de pontes, de micronúcleos, e de pseudo-pontes na meiose, por não termos estudado esta divisão; no entanto o facto de NEVES (inédito) encontrar micronúcleos, na telofase I de *Ranunculus ophioglossifolius* Villars e verificar também naquela espécie que se «formam pseudo-pontes, por coalescência dos topos dos cromosomas dos bivalentes retardatários na segregação» faz pensar que esta coalescência seja a causa da formação daqueles micronúcleos. Isto é tanto mais para acreditar quanto o autor em telofase II de *Ranunculus repens* L. verifica a existência de pseudo-pontes e figura um caso em que os cromosomas resultantes dos micronúcleos se apresentam aglutinados (Fig. 85 *a*).

Também LEMOS-PEREIRA (1942) não se preocupa com o modo de formação dos cromosomas retardatários em *Nigella ciliaris* DC.; no entanto, pelo exame da sua figura 20 *d*, verifica-se que os croma-

tídeos estão aglutinados, não se distenderam e ficaram fora de acção do fuso.

COUTINHO (inédito) observa também que a aglutinação cromática é capaz de originar micronúcleos em tecidos somáticos de *Vicia pisiformis* L.; o modo de formação dêstes micronúcleos é, porém, completamente diferente do que relatámos.

3. — **Germinação dos grãos de pólen**

a) — *Divisão do núcleo gerador no grão de pólen*

Além de espécies com grãos de pólen normalmente trinucleados, conhecem-se vários casos (para bibliografia veja-se por ex. WULFF e MAHESHWARI, 1938) em que a divisão do núcleo gerador em grãos de pólen normalmente binucleados se dá dentro do grão de pólen; tem-se atribuído esta divisão ou a condições de ambiente ou a condições artificiais, ou ainda ao estado senil das anteras experimentadas.

As espécies do género *Haworthia* apresentam normalmente grãos de pólen binucleados. No entanto, grãos de pólen de *anteras velhas* de *Haworthia coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res. mostraram-se-nos, quando em cultura artificial, trinucleados, enquanto que grãos de pólen de *anteras novas* da mesma espécie e nas mesmas condições de cultura não apresentaram aquêle aspecto. Outro exemplo ainda em que o núcleo gerador se pode dividir dentro do grão de pólen é-nos dado pela espécie *Haw. Armstrongii* v. P., na qual *utilizámos também flôres velhas*. Devemos pois, como WULFF (1934), *atribuir a divisão do núcleo gerador dentro do grão de pólen, germinado ou não, ao estado das anteras*. Que esta divisão não é devida às condições artificiais de cultura, como o supuzeram HEITZ e RESENDE (1936), provam-no as muitas experiências que realizámos, *nas mesmas condições*, nas quais *flôres novas, da mesma inflorescência, não apresentaram nunca grãos de pólen trinucleados*.

Pode, todavia, em flôres novas, a divisão do núcleo gerador *iniciar-se* nos grãos de pólen não germinados, o que é confirmado pelos casos em que verificámos que o núcleo gerador se encontra ali em profase (comp. também GEITLER 1941; RHAGAVAN, et alt., 1939).

O aspecto apresentado por aquêles núcleos que parecem ter sofrido uma divisão amitótica, que observámos nos grãos de pólen de *flôres velhas, não tratadas*, de *Haw. coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res. e de *Haw. Armstrongii* v. P., semelhante ao aspecto dos núcleos observados por PODDUBNAJA-ARNOLDI (1936) em *material radiado* de *Pisum sativum* L. tem, segundo esta autora, a seguinte explicação: não se trata duma fase dum processo amitótico, mas é simplesmente o resultado duma incompleta separação dos grupos polares «Doch ist hier die Entstehung dieser Kerne nicht einer Amitose zuzuschreiben: sie verdanken ihre Bindung einer hier aus der unvollkomenen Trennung anaphasicher Gruppen entstandenen Brücke.» É muito presumível que assim seja, porém não podemos a êste respeito emitir uma opinião, porquanto os núcleos que até agora observámos naquelas condições não nos apresentaram sinais de divisão mitótica quer quando apenas se via um estrangulamento da parte média (v. fig. 49) quer nos casos em que se formou uma grande ponte (v. fig. 43).

Dentro do tubo polínico, sòmente uma vez, no híbrido *Haw. Herrei* × *Haw. Reinwardtii* (Fig. 55) verificámos a existência duma ponte que ligava os dois núcleos espermáticos.

b) — *Penetração do núcleo gerador do tubo polínico*

O núcleo gerador, algumas vezes já dividido, outras vezes no estado de profase, outras vezes ainda no estado de repouso, penetra no tubo polínico. Ao contrário do que acontece em outros géneros (comp. bibliografia já citada), no género *Haworthia*, nas condições estudadas, não há prioridade na migração dos núcleos, vegetativo e gerador, para o tubo polínico. Em tôdas as formas estudadas dêste género e numa espécie do género *Gasteria* (Fig. 57) verificámos que o núcleo gerador migra antes ou depois do núcleo vegetativo ou penetram ambos lado a lado no tubo polínico. Mesmo nos casos em que o núcleo gerador já se encontrava dividido antes da germinação, a migração não se dá sempre pela mesma ordem, podendo até acontecer que o núcleo vegetativo se encontre entre os dois núcleos espermáticos. Nunca observámos que dentro do tubo polínico se desse qualquer troca na posição dos núcleos em relação à forma por que tinham saído do grão de pólen. É de supôr que a ordem de migração esteja apenas dependente da posição dos núcleos relativamente ao poro de germinação.

Os factos por nós observados não se prestam a fazer crêr que a entrada do núcleo gerador no tubo polínico esteja realmente relacionada com o comprimento dêste; numa ou noutra forma verifica-se que a migração do núcleo gerador não se dá sem que o

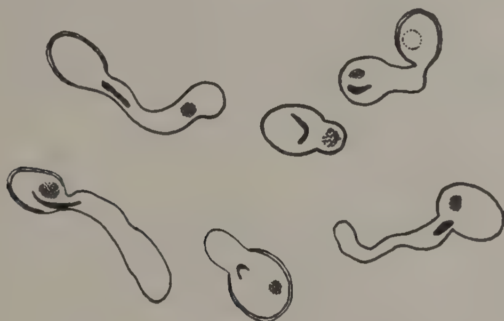


Fig. 57. — *Gasteria sp.*
Germinação de grãos de pólen. Reparar na forma como os núcleos penetram no tubo polínico. Carmim acético. aprox.te × 175.

tubo polínico atinja certo comprimento, ou, pelo menos, dentro da mesma forma, são êsses, por vezes, os casos mais freqüentes. Verifica-se porém que pode dar-se o caso de o tubo polínico apresentar grande comprimento, permanecendo um, os dois ou os três núcleos dentro do grão de pólen.

O núcleo gerador, que grande número de vezes apresenta forma alongada — o que segundo alguns autores indica mobilidade, entra no tubo polínico, mostrando uma das suas pontas dirigida para ali. Numa espécie de *Gasteria* (Fig. 57) porém, vimos que aquêle núcleo apresenta precisamente a parte convexa orientada para a entrada do tubo polínico.

c) — *Divisão do núcleo gerador no tubo polínico*

A divisão do núcleo gerador opera-se, com excepção dos casos já relatados, no tubo polínico, podendo freqüentes vezes, como dissemos, a divisão iniciar-se já no grão de pólen. Foram poucos os casos, por nós observados, da divisão do núcleo gerador

no tubo polínico. Segundo STRAUB (1939) esta divisão estaria relacionada com o comprimento do tubo. O que nós verificámos foi que em *Haw. Carrissoi* Res. e em *Haw. Armstrongii* v. P. a divisão só se observava em tubos polínicos muito compridos e que os tubos polínicos provenientes de grãos de pólen de flôres velhas de *Haw. coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res. apresentavam divisão do núcleo gerador em qualquer posição do tubo polínico, enquanto que tubos polínicos de anteras jovens não mostraram nunca essa divisão.

d) — *Movimento do núcleo gorador*

Enquanto não se observar « in vivo » a deslocação dos núcleos no tubo polínico, é difícil tomar um partido entre as opiniões divergentes àcêrca da actividade ou passividade do núcleo gerador no que se refere ao movimento que o leva a penetrar e a percorrer o tubo polínico. No entanto, as observações que efectuámos aliadas ao conhecimento de alguns argumentos pró e contra as opiniões existentes, permitem-nos fazer algumas considerações sôbre êste assunto.

Fazendo a revisão crítica da bibliografia até então existente, WULFF e MAHESHWARI (1938) acabam por se inclinar «in favour of an active movement of the generative cell and the sperm cell in the pollen tube» perfilhando assim a opinião de diferentes autores.

Os argumentos de que os autores se servem não são contudo suficientes para nos convencer a compartilhar desta ideia.

Que o núcleo tome a forma alongada, dirija uma ponta para o tubo polínico, se fixe às paredes dêste durante a divisão e que, depois desta, continue a sua marcha, é uma sucessão de movimentos orientados que nos parecem demasiados. Em primeiro lugar, o núcleo não apresenta sempre a forma alongada (o que já é considerado por aqueles autores); em segundo lugar devemos chamar a atenção para os aspectos por nós observados em *Gasteria* sp. (Fig. 57), onde o núcleo « voltou » para a entrada do tubo precisamente um lado convexo que opõe portanto maiores obstáculos ao «seu» movimento. Podemos seguidamente pensar que, o que impede que o núcleo se movimente durante a sua divisão — o que não está provado, é conseqüência do próprio desenrolar do processo mitótico e que o facto de uma «Plasmaschwanz» ligar

o núcleo em divisão à parede do tubo polínico constitue, pelo contrário, uma prova a favor da sua passividade — desta forma êle não será arrastado através do tubo. ¿ Pode dizer-se que tem um movimento autónomo êste núcleo que, mergulhado no plasma do tubo polínico, necessita de alguma coisa que o sustenha durante o tempo em que está ocupado « with the tedious process of dividing to form the two male gametes » ? Certamente que não. ¿ Será o núcleo arrastado no caso de não se formar a « Plasmaschwanz » ? Nêsse caso, que espécie de movimento é o « seu » ?

As nossas observações levam-nos a admitir, de preferência, a idéia de passividade dos núcleos no que se refere à sua penetração no tubo polínico e ao seu deslocamento através dêste.

e — *Núcleo vegetativo*

O núcleo vegetativo a princípio esférico, quando dentro do tubo polínico alonga-se, por vezes extraordinàriamente, iniciando um processo de degeneração que leva à sua desintegração e à disseminação da sua massa pelo plasma do tubo (comp. PODDUBNAJA-ARNOLDI, 1936 ; WULFF 1937). Mesmo com o corante que utilizámos, o carmin acético, se pode perceber claramente, com o emprego de objectivas de imersão, esta evolução do núcleo vegetativo, da qual um dos factos que primeiro salta à vista é a ausência de contornos definidos e a presença de prolongamentos amibóides.

Quanto ao papel desempenhado pelo núcleo vegetativo, é esta outra questão a respeito da qual não há uniformidade de opiniões. Os já citados autores WULFF e MAHESHWARI escrevem, em nota, o seguinte : « As pointed out recently by SUITA (1937), Mrs. PODDUBNAJA-ARNOLDI'S statments seem to lead to the conclusion that the nuclei are not needed for the life of the pollen tube ! This is obviously quite incredible ». Nós não vamos afirmar que êles sejam dispensáveis à vida do tubo polínico, mas o que podemos asseverar é que *a sua presença dentro do tubo polínico não é necessária à vida e ao crescimento dêste.* Os exemplos atrás apontados atestam que se podem formar grandes tubos polínicos sem que os núcleos saiam do grão de pólen.

Não é igualmente necessário que seja o núcleo vegetativo o primeiro a migrar no tubo polínico para ir « presidir ao crescimento » dêste ; como se explicariam os casos observados em que

o núcleo gerador ocupa a extremidade do tubo enquanto que o núcleo vegetativo permanece ainda no grão de pólen? Tampouco a degenerescência do núcleo vegetativo afecta o crescimento do tubo polínico; são disso prova suficiente as figuras com que ilustrámos o capítulo III.

4. **Diferenças morfológicas relacionadas com o grau de poliplòidia**

É vastíssima a bibliografia que pretende tornar o aumento do número de cromosomas responsável por diferenças quantitativas dos caracteres morfológicos em espécies próximas ou em formas intra-específicas procurando-se até, para fins de melhoramento de plantas, obter artificialmente poliplóides (comp. WINKLER, 1916; BLAKESLEE e AVERY, 1937; STRAUB, 1939). Tem-se verificado experimentalmente, nos poliplóides obtidos, que o aumento do número de cromosomas implica quási sempre um aumento do tamanho da planta, do seu vigor, do seu pêso (comp. MÜNTZING, 1936; STEBBINS, 1940; KOSTOFF, 1941). Nos poliplóides observa-se um caule mais robusto e mais grosso; fôlhas, relativamente ao comprimento, mais largas, mais grossas e de côr verde mais escura; as flôres e as peças florais são maiores, assim como os frutos e as sementes. O volume da célula, o tamanho dos núcleos, o tamanho das células-mães dos grãos de pólen e o dos grãos de pólen mostram-se também em relação proporcional com o número de cromosomas. Há também exemplos que evidenciam o facto de as espécies com maior número de cromosomas terem uma distribuïção ecológica mais setentrional do que as espécies próximas que teem menor número de cromosomas, ou pelo menos aquelas terem uma maior área de distribuïção do que estas (HAGERUP, 1939) ou ocuparem áreas de temperatura mais baixa (KOSTOFF, 1941). O número de cromosomas é ainda, segundo uns, responsável pelas diferenças ocorridas na velocidade de germinação dos grãos de pólen e pela maior ou menor rapidez no desenvolvimento do tubo polínico (STRAUB, 1939). Pretende-se relacionar o número de cromosomas também com factores de ordem fisiológica, por exemplo o pH, a pressão osmótica, etc. (comp. LÖVE, 1942).

Conhecem-se, no entanto, já bastantes exemplos nos poliplóides naturais que mostram não haver nenhumas relações entre o

número de cromosomas e a medida dos caracteres morfológicos (v. bibliografia por exemplo em MÜNTZING, 1936). Modernamente, verifica-se também experimentalmente que o aspecto morfológico determinado pela multiplicidade do genoma é fundamentalmente dependente da constituïção, isto é, da qualidade dos genes que se multiplicam (PISCHLER, 1942).

No agrupamento que aqui nos interessa, as *Aloinae*, RESENDE (1938) observou, em *Aloe ciliaris* Haw., uma forma pentaplóide e outra hexaplóide, notando que a de menor número de cromosomas é precisamente uma forma *gigas*, na qual, todavia, a quantidade de massa cromática é maior do que na forma hexaplóide (comp., l. c., fig. 1 com fig. 2). Mais tarde (1940), encontrou o mesmo investigador uma série poliplóide natural dentro da espécie *Haworthia tessellata* Haw. onde notou que «no que diz respeito ao tamanho dos indivíduos, ou dos seus orgãos (morfologia externa), não se observa qualquer relação com o grau de poliplòidia».

O estudo das formas da Secção *Coarctatae* leva-nos ás seguintes conclusões:

1) — Tomando a secção em conjunto, não se observa na série poliplóide natural que ela apresenta, qualquer relação entre o grau de poliplòidia e a morfologia externa dos indivíduos.

2) — Dentro da espécie *Haworthia Reinwardtii* Haw., espécie muito polimorfa com nove variedades que apresentam os graus de poliplòidia 2x, 3x e 4x, não há nenhuma relação entre a morfologia externa dos indivíduos e o grau de poliplòidia.

3)— Verificámos que, para as fôlhas, a relação $\frac{\text{comprimento}}{\text{largura}}$ não é, por forma nenhuma, proporcional com o grau de poliplòidia.

4)— A comparação entre as células-mães dos grãos de pólen no estado de tétradas, de formas com diferentes graus de poliplòidia (2x, 3x, 4x e 6x) mostra-nos, mesmo sem necessidade de qualquer medida rigorosa, que *não há um aumento de tamanho que seja nìtidamente proporcional ao aumento do número de cromosomas* (Fig. 58). Se se observa que as células-mães dos grãos de pólen de *Haw. Resendeana* ($2n = 21 = 3x$) são maiores do que as das formas diplóides *Haw. Kewensis, Haw. Reinwardtii* var. *Triebnerii* e *Haw. Lisbonensis*, e que estas são também menores do que as da *Haw. coarctata* var. *Haworthii* for. *major* e da *Haw. Armstrongii*, ambas hexaplóides, já não se observa, no entanto

diferença entre aquelas diplóides e as tetraplóides *Haw. Greenii* for. *minor* e *Haw. Carrissoi*, nem entre a triplóide *Haw. Resendea-*

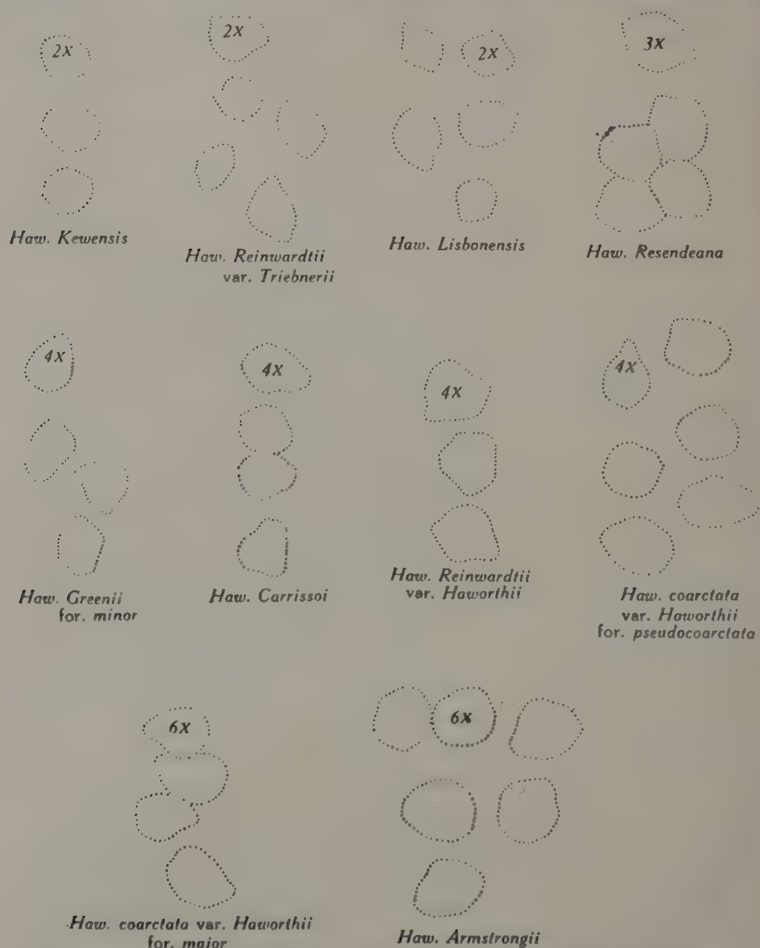


Fig. 58 — Células-mãis de grãos de pólen. Carmim acético. aprox.te × 100.

na, as tetraplóides *Haw. Reinwardtii* var. *Haworthii* e *Haw. coarctata* var. *Haworthii* for. *pseudocoarctata*, e as hexaplóides acima apontadas (1).

---

(1) Só comparámos as formas enunciadas.

5) — Pela comparação dos grãos de pólen observados na ocasião da metafase da primeira divisão (Fig. 59) em formas com

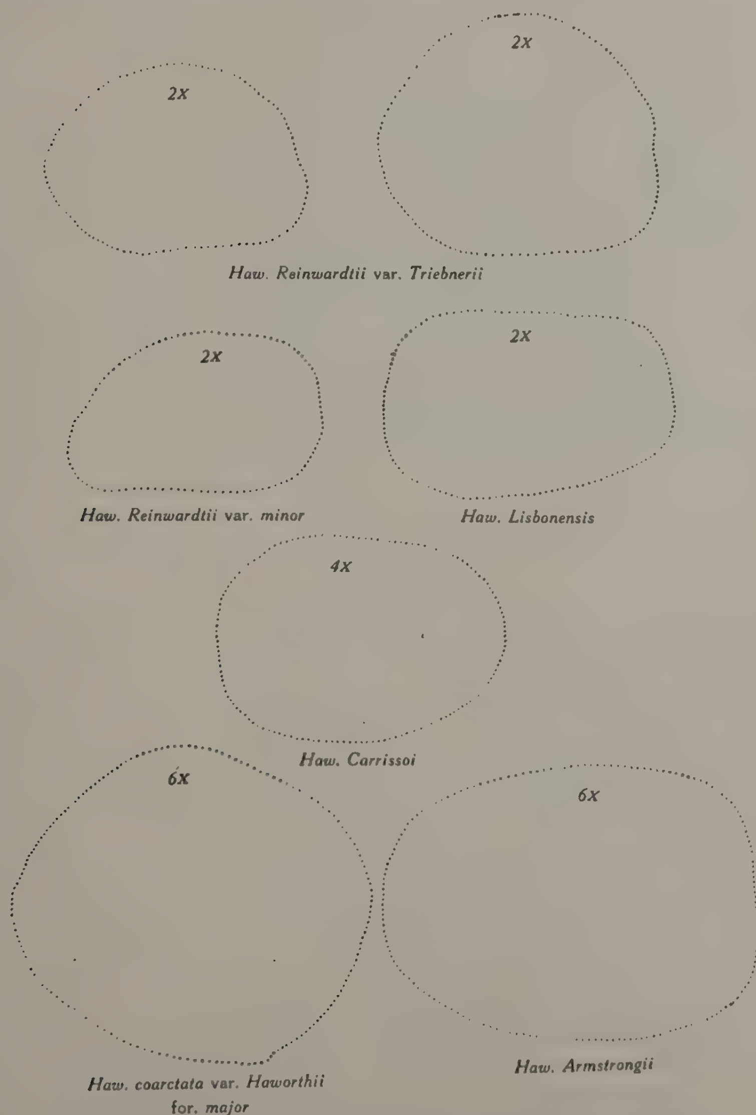


Fig. 59 — Grãos de pólen em metafase da primeira divisão. Carmim acético, aprox.te × 1200.

diferentes graus de poliplòidia (2x, 4x e 6x) *não se verifica nenhuma relação entre o número de cromosomas e o tamanho dos grãos de pólen*; observa-se, no entanto, que os grãos de pólen de duas formas hexaplóides (*Haw. coarctata* var. *Haworthii* for. *major*, e *Haw. Armstrongii*) são maiores do que os das diplóides *Haw. Reinwardtii* var. *Triebnerii*, *Haw. Reinwardtii* var. *minor* e *Haw. Lisbonensis* e do que os da *Haw. Carrissoi*, espécie tetraplóide (1).

6) — No que diz respeito ao comprimento do eixo da inflorescência, verifica-se que o maior foi apresentado pela espécie tetraplóide *Haw. Carrissoi* em comparação com outras tetraplóides, com a pentaplóide *Haw. Broteriana* e com as hexaplóides *Haw. coarctata* var. *Krausii* e *Haw. Armstrongii*. Deve todavia notar-se que a forma, igualmente tetraplóide, *Haw. coarctata* var. *Haworthii* for. *pseudocoarctata*, apresentou o menor eixo de inflorescência observado. Foram apenas comparadas quatro formas tetraplóides, uma pentaplóide e duas hexaplóides; nestas, *não há nenhuma relação entre o comprimento do eixo da inflorescência e o número de genomas.*

7) — Quanto às flôres verificou-se que a relação $\frac{\text{comprimento}}{\text{largura}}$ observada em formas com 28, 35, 36 e 42 cromosomas, era maior para a *Haw. Carrissoi* ($2n = 28$) e a *Haw. Broteriana* ($2n = 35$), e menor para a *Haw. coarctata* var. *Haworthii* for. *pseudocoarctata* ($2n = 28$), a *Haw. glauca* ($2n = 28$) e a *Haw. Sampaiana* ($2n = 36$); entre êstes grupos incluiam-se as flôres de *Haw. Greenii* for. *minor* ($2n = 28$), *Haw. Reinwardtii* var. *Haworthii* ($2n = 28$) e *Haw. coarctata* var. *Haworthii* for. *major* ($2n = 42$). Apesar de terem sido estudadas apenas as oito formas indicadas, observa-se já que *não existe nenhuma proporção entre os factores, relação* $\frac{\text{comprimento}}{\text{largura}}$ *da flor e número de cromosomas.*

8) — O tempo de cultura de grãos de pólen necessário para que se dê a sua germinação não é variável com o grau de poliplòidia, porquanto verificámos que, em cultura artificial de grãos de pólen de formas com 14, 28, 35 e 42 cromosomas, *as germinações se efectuam, independentemente do número de cromosomas,* ao fim do mesmo tempo de cultura. Da mesma forma, também *a velocidade de crescimento do tubo polínico não está relacionada com o grau de poliplòidia*; as variações que se encontram, quer

(1) Só comparámos as formas enunciadas.

no tempo de germinação quer na velocidade de crescimento do tubo polínico, devem ser atribuídas, como já mostrámos, a condições particulares dos grãos de pólen e não ao seu número de cromosomas.

* * *

No que diz respeito à distribuïção geográfica, sabemos apenas que estas espécies «nunca foram encontradas fora da província do Cabo» (von Poellnitz) e que as variedades da espécie *Haw. Reinwardtii* Haw. «crescem tôdas em completa mistura» (von Poellnitz). Isto é, variedades da mesma espécie, portanto formas mais ou menos semelhantes sem grandes diferenças que denotem a existência de diferentes adaptações à luta pela vida (comp. HAGERUP, 1939), apresentando números de cromosomas diferentes, crescem em completa mistura; quere dizer, não há barreiras geográficas, entre as espécies da mesma secção dum género, nem entre as variedades da mesma espécie, que delimitem zonas de formas com diferente número cromosómico.

5. — **Cário-sistemática**

O estudo cariológico aqui realizado em nada nos auxilia para a Sistemática desta Secção. Reparando na Tabela III (pág. 155), vê-se que dentro do mesmo grau de poliplòidia se encontram espécies morfològicamente próximas entre si, por exemplo *Haworthia Jonesiae, Haw. Jacobseniana, Haw. Eilyae*, mas que também formas muito semelhantes, como *Haw. Herrei* var. *depauperata* e *Haw. Herrei* var. *Poellnitzii* teem graus de poliplòidia diferentes. Podemos pois dizer com MÜNTZING (pág. 267): «it is difficult to decide where the species limits should be drawn, and consequently, whether we have to deal with intraspecific chromosomes races or with closely related but separate species». O estudo, morfológico e cariológico, das formas desta secção, não nos permite também seguir o princípio enunciado por NANNFELDT (comp. LÖVE and LÖVE, 1942) no que diz respeito às relações entre o número de cromosomas e os caracteres de morfologia externa. Se, por exemplo, a cariologia faz colocar, ao lado uma da outra, a *Haw. coarctata* var. *Haworthii* for. *pseudocoarctata* e a *Haw. Greenii*, visto que são tetraplóides, o estudo morfológico não permite, segundo cremos,

considerar a *Haw. coarctata* var. *Haworthii* for. *major* e a *Haw. coarctata* var. *Krausii*, que são hexaplóides, mais afastadas daquelas formas tetraplóides do que aquelas ou estas o são entre si.

Se, pelo contrário, uma vez conhecidos os graus de poliplòidia das diferentes formas, verificássemos que aquelas que possuem o mesmo número de cromosomas apresentavam caracteres morfológicos comuns, a contribuïção da cariologia seria grande para o esclarecimento da Sistemática desta Secção.

No que diz respeito a outras características da guarnição cromática, como forma e tamanho dos cromosomas, nada podemos também utilizar, pois as guarnições cromáticas haplóides, como já dissemos, repetem-se sempre com a característica de uniformidade desta sub-família; são quatro cromosomas grandes e três pequenos. Variações de tamanho e de posição das olistherozonas (RESENDE et alt., 1944) não são viáveis para se empregarem como critério sistemático, mesmo que estivessem de qualquer maneira relacionados com o fenotipo, o que também se não observa (comp. já FERNANDES, 1931).

RESUMO

1. — Tôdas as formas conhecidas da Secção *Coarctatae* Berger do género *Haworthia* Duval, com excepção das seguintes espécies: *Haw. Skinerii* (Berger) Res., *Haw. Peacockii* Bak., *Haw. Cassytha* Bak. e *Haw. Henriquesii* Res., foram cariològicamente estudadas. Nesta secção encontra-se uma série poliplóide natural formada pelos termos 2x, 3x, 4x, 5x, 5x+1, 6x.

Confirmamos o número cromosómico referente a seis formas já anteriormente estudadas e infirmamos o número referente a outras três. As restantes vinte e cinco formas não tinham ainda sido estudadas cariològicamente.

2. — Verificámos que as variedades de *Haw. Reinwardtii* Haw. constituem também uma série poliplóide intra-específica natural com os termos 2x, 3x e 4x.

3. — Enquanto investigávamos o número de cromosomas nas diferentes formas, pudemos verificar a grande abundância de casos em que os cromosomas se apresentavam coalescentes. Poucas foram as espécies em que não encontrámos aglutinação cromática espontânea nas suas células somáticas; algumas vezes quási todos

os cromosomas se mostravam aglutinados. Grande parte das figuras, nas quais contámos os cromosomas, apresentava aglutinação quer em metafases, quer em anafases.

4. — Como conseqüência da aglutinação cromática observámos com freqüência as seguintes formações:

a. — Pseudo-pontes, com ou sem distensão simétrica dos dois cromosomas irmãos.
b. — Cromosomas retardatários (Fig. 32, pág. 163).
c. — Micronúcleos, como conseqüencia dos cromosomas retardatários (Fig. 33, pág. 163).
d. — Hiperplòidia, e, possìvelmente, novas formas (Fig. 25, pág. 157).

5. — As observações realizadas permitiram-nos verificar as diferenças de extensibilidade apresentadas pelos cromonemata, conforme são ou não revestidas por kalymma, e pelo próprio kalymma; a aglutinação e os fenómenos a que dá origem comprovam a existência duma série de extensibilidade assim representada:

Zona kalymmatica → *Zona pachykalymmatica* → *Zona a- ou olistherokalymmatica*

Observámos também pontes telofásicas cuja origem não pudemos averiguar (Fig. 30, pág. 161).

6. — Fizemos a cultura de grãos de pólen do formas com diferentes graus de poliplòidia, empregando exclusivamente meios de cultura artificiais. Conseguimos obter a germinação dos grãos de pólen de tôdas as formas ensaiadas.

7. — Dentro da mêsma espécie e na mêsma cultura, verificámos o seguinte:

a. — Não há regularidade na ordem de migração dos núcleos, vegetativo e gerador, para o tubo polínico.
b. — Não há relação entre o comprimento do tubo polínico e a altura de migração dos núcleos.
c. — Em face das observações realizadas, concluimos que a presença dos núcleos no tubo polínico não é necessária ao crescimento dêste.
d. — Quanto à passividade ou actividade do núcleo gerador no que se refere à sua deslocação no tubo polínico, as nossas observações fazem-nos supôr que aquêle núcleo não tem movimento próprio.

8. — Notámos diferenças no tempo da germinação, na velocidade de crescimento do tubo polínico, e no tempo e no lugar da divisão do núcleo gerador quando experimentámos, separadamente, flôres em diferentes idades:

a. — A germinação faz-se mais depressa nos grãos de pólen de flôres novas e nestes é também maior a velocidade de crescimento do tubo polínico.

b. — Nos grãos de pólen das flôres murchas, a germinação é mais tardia e a velocidade de crescimento do tubo polínico, menor. A divisão do núcleo gerador ocorre mais cedo nestes grãos de pólen, e é mais freqüente que essa divisão se opere dentro do grão de pólen, mas pode também dar-se em qualquer posição do tubo polínico.

9. — Não notámos estas diferenças, nas formas e nas condições estudadas, quando comparámos as observações realizadas em espécies de diferente grau de poliplòidia.

10. — Nas diferentes formas estudadas, não observámos diferenças morfológicas que pudessemos relacionar com os diferentes graus de poliplòidia.

11. — O estudo cariológico aqui realizado não pode contribuir para o estudo da Sistemática desta Secção *Coarctatae* Berger do género *Haworthia* Duval.

RÉSUMÉ

1.— Nous avons étudié, du point de vue caryologique, toutes les formes connues de la Section *Coarctatae* Berger du genre *Haworthia* Duval, à exception des espèces suivantes: *Haw. Skinnerii* (Berg.) Res., *Haw. 'Peacockii* Bak., *Haw. Cassytha* Bak. et *Haw. Henriquesii* Res. On trouve dans cette Section une série polyploïde naturel formée par les termes 2x, 3x, 4x, 5x, 5x + 1, 6x.

Nous confirmons le nombre chromosomique concernant six formes déjà antérieurement étudiées et infirmons le nombre relatif à trois autres. Les autres vingt-cinq formes n'avaient pas encore été étudiées caryologiquement.

2.— Nous avons vérifié que les variétés de *Haw. Reinwardtii* Haw. constituent aussi une série polyploïde naturelle avec les termes 2x, 3x et 4x.

3.— Pendant nos recherches sur le nombre de chromosomes dans les différentes formes, nous avons pu vérifier la grande abondance de cas où les chromosomes se présentaient coalescents. Le nombre des espèces où nous n'avons pas trouvé d'agglutination chromatique spontanée dans les cellules somatiques est très petit; quelques fois même presque tous les chromosomes se montraient agglutinés. Une grande partie des figures, dans lesquelles nous avons compté les chromosomes, présentait de l'agglutination soit en métaphase, soit en anaphase.

4. — Comme conséquence de l'agglutination chromatique, nous avons observé avec fréquence les formations suivantes:

a. — Pseudo-pontes, avec ou sans distension symétrique des deux chromosomes.
b. — Chromosomes retardataires (Fig. 32, page 163).
c. — Micronoyaux, en conséquence des chromosomes retardataires (Fig. 33, page 163).
d. — Hyperploïdie et, possiblement, de nouvelles formes (Fig. 25, page 157).

5. — Les observations réalisées ont permis de vérifier les différences d'extensibilité présentées par les chromonemata, selon qu'ils sont ou non revêtus par du kalymma, et par le kalymma lui-même; l'agglutination et les phénomènes qu'elle entraine confirment l'existence d'une série d'extensibilité ainsi représentée:

zone kalymmatique → zone pachykalymmatique → zone a - ou olistherokalymmatique

Nous avons aussi observé des ponts télophasïques dont nous ne pouvons pas établir l'origine (Fig. 30, page 161).

6. — Nous avons fait la culture des grains de pollen des formes à différents degrés de poyploïdie, en employant exclusivement des milieux de culture artificiels.

Nous avons réussi à obtenir la germination des grains de pollen de toutes les formes essayées.

7.— Dans la même espece et dans la même culture, nous avons vérifié ce que suit:

a.— Il n'y a pas de régularité dans l'ordre de migration des noyaux, végétatif et générateur, dans le tube pollinique.
b.— Il n'y a pas de relation entre la longueur du tube pollinique et le moment de migration des noyaux.
c.— Les observations effectuées permettent de conclure que la présence des noyaux dans le tube pollinique n'est pas indispensable à la croissance de celui-ci.
d.— En ce qui concerne la passivité ou l'activité du noyau générateur lors de sa dislocation dans le tube pollinique, nos observations nous laissent supposer que ce noyau n'a pas de mouvement propre.

8.— Nous avons observé des différences dans le temps de germination, la vélocité de croissance du tube pollinique, et dans le temps et le lieu de division du noyau génerateur dans les essais portant sur des fleurs à différents âges:

a.— Pour les grains de pollen des fleurs jeunes, la germination s'effectue plus rapidement, et chez eux la vélocité de croissance du tube pollinique est aussi plus grande.
b.— Dans les grains de pollen des fleurs flétries, la germination est plus tardive et la vélocité de croissance du tube pollinique, plus petite. La division du noyau générateur survient plus tôt dans le tube pollinique de ces grains de pollen; pourtant cette division s'opère plus fréquement à l'intérieur du grain de pollen.

9. — Nous n'avons pas constaté ces différences, dans les formes et pour les conditions étudiées, lorsque nous avons comparé les observations éffectuées sur des espèces à différents degrés de polyploïdie.

10. — Dans les différentes formes étudiées nous n'avons pas constaté de différences morphologiques qu'on puisse rapporter aux différents degrés de polyploïdie.

11. — Nous n'avons pu mettre à profit l'étude caryologique

TABELA — RESUMO (1)

N.º	NOME	CROMOSOMAS 2n =	Fig.	n =	Fig.	Grau de poliplòidia	Aglutinação Fig.	Grãos de pólen Germinação	Fig.	A forma foi estudada (2) Autor	ano	2n =
1	*Haw. Sampaiana* Res.	**36**	1			**5x+1**	32,34			RESENDE	1938	39-40 **
2	» *Broteriana* Res.	**35**	2			**5x**		+	35	PINTO LOPES	hic	
3	» *Carrissoi* Res.	**28**		**14**	4	**4x**	26	+	36	»	»	
4	» *Rewendettii* Uit.	**35**	3			**5x**	3			»	»	
6	» *Kewensis* v. P.	**14**				**2x**		+	37	»	»	
7 a	» *Reinwardtii* Haw. var. *conspicua* v. P.	**28**	5			**4x**				RESENDE	1938	28 *
b	» » var. *Archibaldiae* v. P.	**21**				**3x**				»	1938	28 **
c	» » var. *adelaidensis* v. P.	**14**	8			**2x**				PINTO LOPES	hic	
d	» » var. *Chalwinii* (M. et B.) Res.	**28**	6			**4x**	6			RESENDE	1937	28 *
e	» » var. *Triebnerii* Res.	**14**		**7**	9	**2x**				PINTO LOPES	hic	
f	» » var. *minor* Bak.	**14**		**7**	10	**2x**		+	38	»	»	
g	» » var. *fallax* v. P.	**28**	7			**4x**				»	»	
h	» » var. *Haworthii* Res.	**28**				**4x**		+	39	»	»	
i	» » var. *major* Bak.	**14**	11			**2x**				RESENDE	1938	28 **
10 a	» *coarctata* Haw. var. *Haworthii* Res. for. *major* Res.	**42**		**21**	12	**6x**		+	40,44	»	1937	42 *
b	» » var. *Haworthii* Res. for. *pseudocoarctata* (v. P.) Res.	**28**				**4x**		+	45	PINTO LOPES	hic	
c	» » var. *Krausii* Res.	**42**				**6x**				»	»	
11 a	» *Greenii* Bak. for. *Bakerii* Res.	**28**	13			**4x**	13,27			»	»	
b	» » for. *minor* Res.	**28**	14-15			**4x**	14,15,28	+	46	»	»	
12	» *Jacobseniana* v. P.	**14**	16			**2x**	16			»	»	
13	» *Ionesiae* v. P.	**14**	17			**2x**				»	»	
15 a	» *Herrei* v. P. var. *Poellnitzii* Res.	**14**				**2x**				»	»	
b	» » var. *depauperata* v. P.	**42**				**6x**				RESENDE	1938	42 ? *
16	» *rubrobrunea* v. P.	**35**				**5x**		+		PINTO LOPES	hic	
17	» *Resendeana* v. P.	**21**	18			**3x**	18			RESENDE	1937,38	21 *
18 a	» *Eilyae* v. P. var. *Poellnitzeana* Res.	**14**				**2x**				PINTO LOPES	hic	
b	» » var. *Zantnereana* Res.	**14**				**2x**				»	»	
19	» *Armstrongii* v. P.	**42**	19	**21**	20	**6x**	19	+	47,49	»	»	
20	» *glauca* Bak.	**28**				**4x**		+	50,51	RESENDE	1938	29
21	» *Lisbonensis* Res.	**14**	21	**7**	22	**2x**	25	+	52,53	PINTO LOPES	hic	
	Haw. Herrei × *Haw. Reinwardtii*	**14**	23			**2x**	23	+	55	»	»	
	Haw. Jacobseniana × *Haw. Reinwardtii*	**14**	24			**2x**	24			»	»	
	Haw. Henriquesii × *Haw. Eilyae*	—				—		+	54			

(1) Veja-se também a tabela III (pág. 155).

(2) Há a acrescentar a esta lista a indicação de SATÔ (1937) àcêrca da hexaplòidia duma forma de *Haworthia Reinwardtii* Haw.

* Assinalamos com um asterisco os números que confirmámos.

** Apontamos com dois asteriscos os números que emendámos.

7
vérifi

8
germi
le ten
portai

9
forme.
paré
degré:
1
consta
aux di
1

ici réalisée comme contribution à l'étude systématique de cette Section *Coarctatae* Berger du genre *Haworthia* Duval.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERGER, A.

1908 Liliaceae – Asphodeloideae — Aloineae in *Das Pflanzenreich* IV. 38. III. II.

CASTRO, D.

1942 Nota àcêrca da acção da colquicina sôbre o centrómero. *Agron. Lusitana* **4** (1): 61-70

COOPER, D. C.

1935 Microsporogenesis and the develoment of the male gametes in *Portulaca oleracea. Amer. Journ. Bot.* **22**: 453-459.

COUTINHO, L. de A.

1940 a Os virus como agentes modificadores dos cromosomas. *Revista Agronomica* **28**: 83-100

1940 b Raças cariológicas na *Vicia sativa* L. *Agron. Lusitana* **2** (4) : 379-403.

1942 O « mosaico das Leguminosas » agente perturbador da hereditariedade? *Agron. Lusitana* **4** (4): 273-292.

DARLINGTON, C. D.

1942 Chromosome chemistry and gene action. *Nature* **149** (3768): 66-69.

DARLINGTON, C. D. and UPCOTT, M. B.

1941 Spontaneous chromosome change. *Journ. of Genetics* **41** (2,3): 297-338.

FERGUSON, N.

1926 The *Aloinae*: a cytological study with special reference to the form and size of the chromosomes. *Philos. trans. roy. Soc. Lond.* 215.

FERNANDES, A.

1931 Estudos nos cromosomas das Liliáceas e Amarilidáceas. *Bol. Soc. Broteriana* **7** (2.ª série): 3-110.

FERNANDES, A. et NEVES, J. B.

1941 Sur l'origine des formes de *Narcissus Bulbocodium* L. à 26 chromosomes. *Bol. Soc. Broteriana* **15** (2.ª série): 43-129.

FIRBAS, F.

1942 in *Lehrbuch der Botanik* für hochshulen, begründet von Strassburger, et alt. 21-Auflage.

GOLA, G., NEGRI, G. e CAPPELLETTI, C.

1943 *Tratado de Botánica.* Trad. de la 1.ª ed. italiana por el Dr. P. Fonte-Quer.

HAGERUP, O.

1939 Studies on the significance of polyploidy III. Deschampsia and Aira. *Hereditas* **25** (2): 185-192.

HEIM, R.

1939 *La reproduction chez les plantes.* Librairie Armand Collin. Paris.

HEITZ, E.

1935 Cromosomenstruktur und gene. *Zeitsch. f. Abst. u. Vererb.* **70** : 402.

HEITZ, E. und RESENDE, F.

1936 Zur methodik der Pollenkorn-und Pollenschlauch-Untersuchungen. *Bol. Soc. Broteriana* **11** (2.ª série) : 5-42.

KLINGSTEDT, H.

1938 Failure of anaphase separation in species hybrids. *Nature* **141** : 606.

KOSTOFF, D.

1941 Poliploidy and its role in evolution and plant breeding. *Central Agricultural Research Institute, Sofia.*

LEMOS-PEREIRA, A. de

1942 Contribuição ao conhecimento cariológico do género *Nigella* L. *Bol. Soc. Broteriana* **16** (2.ª série) : 5-40.

LÖVE, Á.

1942 Physiological differences within a natural polyploid series. *Hereditas* **27** : 504-506.

LÖVE, Á. and LÖVE, D.

1942 Chromosome numbers of Scandinavian plant species. *Botaniska Notiser.*

MC CLINTOCK, B.

1929 A method for making aceto-carmim smears permanent. *Stain Technol.* **4** : 53-56.

1941 The stability of broken ends of chromosomes in *Zea Mays*. *Genetics* **26** : 234.

MÜNTZING, A.

1936 The evolutionary significance of autopolyploidy. *Hereditas* **21** : 263-378.

NEVES, J. de B.

1942 Sôbre a cariologia de *Ranunculus Ficaria* L. *Bol. Soc. Broteriana* **16** (2.ª série).

inédito Contribuição para o estudo cário-sistemático do género *Ranunculus* L.

ÖSTERGREN, G.

1944 An efficient chemical for the induction of sticky chromosomes. *Hereditas* **30**.

PISCHLER, K.

1942 in *Berichte Deut. Bot. Gesel.* **60**.

PODDUBNAJA-ARNOLDI, V.

1936 Beobachtungen über die Keimung des pollens einiger Pflanzen auf künstlichen Nährboden. *Planta* **25** : 502-529.

von POELLNITZ, K.

1936 Key to the genus *Haworthia* Duval. *The Cactus Journal* **5** (6) : 28-38.

POLITZER, G.

1934 *Pathologie der mitose.* Berlin. Protoplasma-Monographien Band 7.

RAGHAVAN, J. S., VENKATASUBBAAN, K. R., and WULFF, H. D.

1939 Division of the generative cell in *Impatiens Balsamina* L. *Cytologia* **9** (4): 389-392.

RESENDE, F.

1936 Die SAT-Chromosomen bei den Aloinae. *Berichte Deut. Bot. Gesel.* **54**

1937 Über die Ubiquität der SAT-Chromosomen bei den Blütenpflanzen. *Planta* **26** (5) : 757-807.

1938 Gigas-Formen mit geringerer Chromosomenzahl als die Stammarten. *Berichte Deut. Bot. Gesel.* **56** (10) : 533-542.

1939 Über das Verhalten des SAT-Fadens. *Planta* **29** (2) : 306-314.

1940 Estudos Cariológicos nas Aloinae III. A poliplòidia na secção *Tessellatae* do género *Haworthia* e as actuais leis de prioridade em sistemática. *Bol. Soc. Broteriana* **14** (2.ª série) : 189-201.

1941 Movimento, aglutinação, pontes e distensão dos cromosomas na mitose. *Bol. Soc. Broteriana* **15** (2.ª série) : 163-196.

1943 Suculentas africanas III. Contribuïção para o estudo da morfologia, da fisiologia, da floração e da geno-sistemática das Aloinae. *Mem. Soc. Broteriana.*

RESENDE, F., LEMOS-PEREIRA, A. de, e CABRAL, A.

1944 Àcêrca da estrutura dos cromosomas nas mitoses dos meristemas radiculares. *Portugalia Biologica* **1**.

RESENDE, F., e PINTO LOPES, J.

inédito Suculentas africanas IV. Uma espécie nova e contribuïção para o conhecimento de algumas espécies do género *Haworthia.*

SATÔ, D.

1936 Chromosome studies in *Scilla*, III. SAT-Chromosomes and the karyotype analysis in *Scilla* and other genera. *Cytologia* **7** (4) : 521-529.

1937 Karyotype alteration and phylogeny, I. Analysis of karyotypes in Aloinae with special reference to the SAT-Chromosomes. *Cytologia* Fugii Jub.: 80-95.

SCHNARF, K.

1941 *Vergleichende cytologie des Geschlechtsapparates der Kormophyten. Monographien zur vergleichende cytologia.* I. Band.

SERRA, J. A.

1942 Relations entre la chimie et la morphologie nucléaire. *Bol. Soc. Broteriana* **16** (2.ª série) : 83-135.

1943 Sur la composition protéique des chromosomes et la réaction nucléale de Feulgen. *Bol. Soc. Broteriana* **17** (2.ª série) : 203-211.

SERRA, J. A. e QUEIROZ LOPES, A.

1944 Direkter Nachweis von basichen Proteinen. *Zellkern. Naturw.* **32** : 47.

SHARP, L. W.

1934 *Introduction to cytology.* 3rd ed. Mc Graw-Hill Book C.º, Inc. New-York. London.

SINNOT, E. W.

1935 *Botany principles and problems.* Mc Graw-Hill Book C.º, Inc. New-York. London.

STEBBINS, G. L.

1940 The significance of polyploidy in plant evolution. *Amer. Nat.* **74** (750): 54-65.

STRAUB, J.

1939 Polyploidieauslösung durch Temperaturwirkungen (Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an der reproducktiven Phase von Gasteria.) *Zeitschr. f. Botanik* **34**.

TAYLOR, W. R.

1925 Cytological studies on Gasteria. II. A comparison of the chromosomes of Gastaria, Aloë, and Haworthia. *Amer. Journ. Botany* **12** (4): 219-223.

WETTSTEIN, R.

1944 *Tratado de Botanica sistemática.* Trad. de la 4.ª ed. Alem. por Font-Quer. Editorial Labor, S. A.

WINKLER, H.

1916 Über die experimentelle Erzengung von Pflanzen mit abweichenden Chromosomenzahlen. *Zeitschr. f. Botanik* **8** (7,8): 417-531.

WULFF, H. D.

1933 Beiträge zur Kenntnis des männlichen Gametophyten der Angiospermen. *Planta* **21**.

1934 Untersuchungen an Pollenkörnern und Pollenschläuchen von *Impatiens parviflora*. *Ber. Deut. Bot. Ges.* **52**.

1937 Development of the male gametes in Angiosperms *Current Science* **5** (8): 455-456.

WULFF, H. D. and MAHESHWARI, P.

1937 The male gametophyte of Angiosperms (a critical revew). *Journal of the Indian Botanical Society* **17** (2,3): 117-140.

ERRATA

Na pág. 138, o período que começa na 5.ª linha deve ter a seguinte redacção:

> «É interessante notar que no género *Aloe* é conhecida uma forma, *Aloe mitriformis* var. *typica*, onde se encontram também cromosomas de tamanho intermediário (v. RESENDE, 1937); esta forma é, porém, diplóide.»

Pág.	Linha	Onde se lê	Leia-se
140	6	*Haw. Reinwardtii* Res.	*Haw. Reinwardtii* Haw.
140	10	*Haw. Reinwardtii* var. *conspicua* v. P.	*Haw. Reinwardtii* Haw. var. *conspicua* v. P.
140	15	*Hawortii*	*Haworthii*
145	14	É interessante de novo notar-se	É interessante notar-se
166	22	359	459
176	15	2	2n
177	13	2	2n
179	Fig. 48	*Howarthia*	*Haworthia*
184	10	alopolipóides	alopoliplóides
192	6	o facto	no facto
194	21	do tubo	no tubo
195	2	realmente	geralmente
196	10	gorador	gerador
204	17	relacionados	relacionadas
205	15	revestidas	revestidos
205	21	do formas	de formas
211	17	Àcêrca da estrutura dos cromosomas nas mitoses dos meristemas radiculares	Sur la structure des chromosomes dans les mitoses des méristèmes radiculaires III

Também por lapso, não incluimos na lista das referências bibliográficas, o trabalho de GEITLER (1941) citado na página 193. Queriamo-nos referir ao artigo: *Über die Struktur des generativen Kerns im zweikerningen Angiospermenpollen* publicado em *Planta* **32** (2): 187-195.

SUMÁRIO